

**Efecto del ambiente materno sobre el nivel de dormición y los patrones temporales de emergencia de dos especies maleza primavero-estivales:
Polygonum aviculare L. y *Amaranthus hybridus* L.**

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,
Área Ciencias Agropecuarias*

Rocío Belén Fernández

Ingeniera Agrónoma - Universidad de Buenos Aires - 2013

Lugar de trabajo: Cátedra de Cultivos Industriales e IFEVA -
Facultad de Agronomía - Universidad de Buenos Aires



FAUBA

Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía - Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Diego Batlla

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Co-director

Roberto L. Benech-Arnold

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Magister Scientiae (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Doctor of Philosophy (University of Southampton, United Kingdom)

JURADO DE TESIS

Director de tesis

Diego Batlla

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

JURADO

José Luis González-Andújar

Licenciado en Biología (Universidad Complutense de Madrid, España)

Doctor en Ciencias Biológicas (Universidad Complutense de Madrid, España)

JURADO

Javier Francisco Botto

Licenciado en Biología (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

JURADO

Guillermo Rubén Chantre Balacca

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional del Sur, Argentina)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional del Sur, Argentina)

Fecha de defensa de la tesis: 20 de octubre de 2020

*Para quienes se preguntan, porqué hay cuando
pudo haber habido nada.*

Agradecimientos

A mi director de tesis, Diego Batlla, por haberme dado la posibilidad de desarrollar el doctorado en su grupo de trabajo, por haberme ayudado a ejercitar una mirada crítica frente a las problemáticas y el análisis de los resultados. Aprendí de él en cada instancia del doctorado y he disfrutado mucho de su compañía a lo largo de este recorrido.

A mi co-director, Roberto Benech-Arnold, por estar predispuesto continuamente a discutir los resultados y brindar su enfoque cada vez que lo solicité. Sus aportes resultaron enriquecedores en cada oportunidad.

A la UBA por haber contribuido a la financiación de esta tesis. Al CONICET por haberme otorgado la beca doctoral. A la EPG por estos años de formación. A los jurados de esta tesis por sus valiosos aportes.

A la FAUBA por todos los recursos que me brindó. A mí querida Cátedra de Cultivos Industriales. A mis compañeros, en especial a Coni, Quique, Kelly, Magui, Marianne, Cris, Tony, Joha, Chalo y Fer, con quienes compartí de todo y se convirtieron en mis amigos. A todos los integrantes de la cátedra por el acompañamiento de estos años y por ayudarme a crecer. A Edy, Daniel, Patricia, Nora y Elba porque cada vez que acudí a ellos me brindaron su concejo y su visión, haciendo más fácil cada paso a seguir. A Mirta por su labor con los trámites, a Marianela por darme siempre una mano con el orden. A Juan, Maxi y Román, por la ayuda en el Campo de Cereales y a los técnicos del IFEVA. A todos los integrantes de las Cátedras de Cereales y Producción Vegetal, por el inagotable compañerismo. A Verónica Rodríguez y Mailén Riveira, por la buena onda. A Anita Mantese por su gran predisposición.

A mis amigos, en particular a Fedé, Vale, Suray y Nuri, porque siempre están.

Desde siempre, a mis padres, mis hermanos, Manu y Lu, sus compañeros Tamara y Mariano, mi sobrina Lelê y les que vendrán: son mi cable a tierra, mis ejes y mi fuente inagotable de energía, alegría y paz.

A todos los que contribuyeron a que pudiera cumplir este objetivo.

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.

Rocío Belén Fernández

PUBLICACIONES

Fernández Farnocchia, R.B., Benech-Arnold, R.L., Batlla, D. 2019. Regulation of seed dormancy by the maternal environment is instrumental for maximizing plant fitness in *Polygonum aviculare*. *Journal of experimental botany*, **70**: 4793-4806.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	xi
ÍNDICE DE CUADROS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ABREVIATURAS	xi
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
CAPÍTULO 1	1
Introducción general: revisión de antecedentes y presentación del problema	1
1.1. Introducción general.....	1
1.1.1. Definición y caracterización de la dormición	4
1.1.2. Factores ambientales que modulan el nivel de dormición de las semillas ..	8
1.1.3. Factores ambientales que terminan la dormición.....	10
1.1.4. Efecto del ambiente materno sobre la dormición.....	13
1.1.5. Casos de análisis: <i>Polygonum aviculare</i> y <i>Amaranthus hybridus</i>	16
1.2. Objetivos.....	21
1.2.1. Objetivo general	21
1.2.2. Objetivos particulares.....	21

1.3. Hipótesis propuestas y predicciones asociadas.....	22
1.4. Estructura de la tesis.....	23
CAPÍTULO 2	25
La regulación del ambiente materno sobre la dormición en semillas de <i>Polygonum aviculare</i> es fundamental para maximizar la capacidad reproductiva de las plantas..	25
Resumen.....	25
2.1. Introducción.....	26
2.2. Materiales y métodos	28
2.2.1. Experimentos de ambiente materno	28
2.2.1.1. <i>Exposición de las plantas a variaciones en las condiciones ambientales a través de cambios en la fechas de siembra.....</i>	29
2.2.1.2. <i>Exposición de las plantas a variaciones en el fotoperíodo durante la etapa reproductiva.....</i>	29
2.2.2. Experimentos de post-maduración.....	30
2.2.2.1. Dormición primaria	30
2.2.2.2. Dormición secundaria.....	31
2.2.2.3. Patrones temporales de emergencia a campo.....	32
2.2.3. Condiciones de post-maduración	32
2.2.4. Pruebas de germinación y emergencia	33

2.2.5. Desarrollo de modelos	35
2.3. Resultados.....	35
2.3.1. Condiciones ambientales durante el crecimiento de las plantas y producción de semillas por planta.....	35
2.3.2. Efecto del ambiente materno sobre la salida de la dormición primaria	38
2.3.3. Efecto del ambiente materno sobre la inducción en dormición secundaria.....	43
2.3.4. Desarrollo de modelos	44
2.3.5. Cuantificación del efecto del ambiente materno sobre la salida de la dormición primaria.....	45
2.3.6. Cuantificación del efecto del ambiente materno sobre la inducción en dormición secundaria	47
2.3.7. Efecto del ambiente materno sobre la emergencia a campo.....	48
2.3.8. Aplicación de los modelos de salida y entrada en dormición.....	50
2.4. Discusión	51
CAPÍTULO 3	59
La regulación del ambiente materno sobre la emergencia de <i>Amaranthus hybridus</i> sugiere la existencia de un rol ecológico común a distintas especies	59
Resumen.....	59
3.1. Introducción.....	59

3.2. Materiales y métodos	62
3.2.1. Experimentos de ambiente materno	62
3.2.1.1. <i>Exposición de las plantas a variaciones en las condiciones ambientales a través de cambios en la fecha de siembra</i>	62
3.2.1.2. <i>Exposición de las plantas a variaciones en el fotoperíodo durante la etapa reproductiva</i>	62
3.2.2. Experimentos de post-maduración.....	64
3.2.2.1. Dormición primaria	64
3.2.2.2. Patrones temporales de emergencia a campo.....	64
3.2.3. Condiciones de post-maduración	65
3.2.4. Pruebas de germinación y emergencia	65
3.2.5. Estructura de la semilla.....	67
3.2.6. Desarrollo de modelos	67
3.3. Resultados.....	67
3.3.1. Condiciones ambientales durante el crecimiento de las plantas y producción de semillas por planta.....	67
3.3.2. Efecto de la fecha de siembra sobre el nivel de dormición de las semillas	69
3.3.3. Efecto de la fecha de siembra sobre la respuesta de las semillas a la luz..	71
3.3.4. El rol de las cubiertas y la participación del fotoperíodo	73

3.3.5. Respuesta de las semillas al agregado exógeno de hormonas	75
3.3.6. Efecto de la fecha de siembra sobre los patrones temporales de emergencia a campo.....	76
3.3.7. Cuantificación y simulación del efecto de la fecha de siembra sobre el nivel de dormición de las semillas	77
3.4. Discusión	81
CAPÍTULO 4	89
Efecto de la temperatura durante la producción de semillas de <i>Polygonum aviculare</i> sobre el nivel de dormición y los patrones temporales de emergencia	89
Resumen.....	89
4.2. Introducción.....	90
4.3. Materiales y métodos	92
4.3.3. Ensayos de ambiente materno.....	92
4.3.3.1. <i>Variación de la temperatura materna mediante el uso de carpas</i>	92
4.3.3.2. <i>Variación de la temperatura materna en invernáculos</i>	93
4.3.3.3. <i>Variación de la temperatura materna en cámaras de crecimiento</i>	94
4.3.4. Experimentos de post-maduración.....	95
4.3.4.1. Dormición primaria	95
4.3.4.2. Dormición secundaria.....	96

4.3.4.3. Patrones temporales de emergencia a campo.....	96
4.3.5. Condiciones de post-maduración	97
4.3.6. Pruebas de germinación y emergencia	97
4.4. Resultados.....	98
4.4.3. Condiciones ambientales durante el crecimiento de las plantas y producción de semillas	98
4.4.4. Efecto de la temperatura materna sobre la dormición.....	100
4.4.5. Efecto de la temperatura materna sobre la respuesta de las semillas a la luz.....	104
4.4.6. Efecto de la temperatura materna sobre los patrones de emergencia a campo	106
4.4.7. Cuantificación y simulación del efecto de la temperatura materna sobre la germinación	107
4.4.8. El rol de la temperatura materna en relación al efecto del fotoperíodo.....	108
4.5. Discusión	110
CAPÍTULO 5	115
El efecto de la presencia del canopeo sobre la dormición en semillas de <i>Polygonum aviculare</i> y su impacto sobre la emergencia a campo.....	115
Resumen.....	115

5.1. Introducción.....	116
5.2. Materiales y métodos	118
5.2.1. Experimentos de ambiente materno	118
5.2.1.1. <i>Exposición de las plantas durante sus etapas reproductivas a las variaciones del micro-ambiente impuestas por un canopeo.....</i>	118
5.2.1.2. <i>Exposición de las plantas a variaciones en la cantidad de radiación incidente durante la etapa reproductiva.....</i>	119
5.2.1.3. <i>Exposición de las plantas a variaciones en la R:RL durante la etapa reproductiva</i>	120
5.2.2. Experimentos de post-maduración.....	121
5.2.2.1. Dormición primaria	121
5.2.2.2. Componentes de cubiertas y embrionarios que determinan el nivel de dormición del fruto	122
5.2.2.3. Patrones temporales de emergencia a campo.....	122
5.2.3. Condiciones de post-maduración	123
5.2.4. Pruebas de germinación y emergencia	123
5.2.5. Transmitancia de las cubiertas y valores de $P_{fr}:P_{total}$	125
5.2.6. Estructura del fruto.....	125
5.2.7. Determinación de Polifenoles totales	126

5.3. Resultados.....	126
5.3.1. Condiciones ambientales durante el crecimiento de las plantas y producción de semillas	126
5.3.2. Efectos sobre el nivel de dormición y la respuesta de los frutos a la luz	129
5.3.3. Evaluación de los componentes de cubiertas y embrionarios que determinan la dormición del fruto.....	133
5.3.3.1. Estructura de los frutos	134
5.3.3.2. Contenido de Polifenoles totales	135
5.3.3.3. Variaciones en la permeabilidad de las cubiertas.....	136
5.3.3.4. Efectos sobre la transmitancia de las cubiertas y la $P_{fr}:P_{total}$ establecida a cosecha	136
5.3.3.5. Efecto de la presencia del conopeo de un cultivo sobre los diferentes tejidos que imponen dormición en el fruto	137
5.3.4. Efectos sobre la emergencia a campo.....	140
5.4. Discusión	142
CAPÍTULO 6	151
Discusión general.....	151
Resumen.....	151
6.1. Marco conceptual de la problemática abordada	151

6.2. Revisión de las hipótesis y planteo de un modelo conceptual que contempla el efecto del ambiente materno sobre la dormición.....	153
6.2.1. El efecto de la fecha de siembra sobre la dormición y sus consecuencias sobre la emergencia a campo	158
6.2.2. El efecto de la presencia de un canopeo sobre la dormición de semillas de <i>P. aviculare</i> y sus consecuencias sobre la emergencia a campo	161
6.2.3. Avances preliminares acerca de los cambios en los componentes embrionarios y de cubiertas involucrados en el efecto del ambiente materno sobre la dormición en semillas de <i>A. hybridus</i> y <i>P. aviculare</i>	164
6.3. Consideraciones acerca del efecto materno sobre el comportamiento germinativo de las poblaciones de malezas en los sistemas de cultivo	167
6.4. Consideraciones sobre el efecto del ambiente materno en un contexto de cambio climático.....	170
6.5. Implicancias para futuras investigaciones.....	173
BIBLIOGRAFÍA	176
ANEXO.....	187
Figuras y notas suplementarias al Capítulo 2	187
Figuras y notas suplementarias al Capítulo 3	192
Figuras y notas suplementarias al Capítulo 4	199
Figuras y notas suplementarias al Capítulo 5	199

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2. 1. Valores promedio (\pm DE) de variables ambientales medidas durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas en plantas que fueron sembradas en diferentes fechas en tres estaciones de crecimiento consecutivas (2015/16, 2016/17 y 2017/18).	37
Cuadro 3. 1. Valores promedio (\pm DE) de variables ambientales registradas durante el ciclo total, etapas vegetativa y reproductiva para plantas sembradas en diferentes fechas.	68
Cuadro 4. 1. Valores promedio (\pm DE) de temperatura, fotoperíodo, humedad relativa y radiación incidente durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas de <i>P. aviculare</i> en la planta madre para los experimentos realizados en carpas, invernáculos y condiciones de campo (i.e. exterior).	99
Cuadro 5. 1. Valores promedio (\pm DE) de variables ambientales medidas durante la formación de los frutos de <i>P. aviculare</i>	127
Cuadro 5. 2. Valores medios obtenidos de polifenoles totales (equivalentes de ácido gálico) expresados en g/100 g de frutos (% P/P). Los frutos fueron obtenidos de plantas de <i>P. aviculare</i> que se mantuvieron aisladas (SC-Sin cultivo) o plantas que fueron crecidas bajo un canopeo de un cultivo sembrado a baja (CCBD-Con cultivo a baja densidad) o alta (CCAD-Con cultivo a alta densidad) densidad.	136
Cuadro 5. 3. Valores relativos de Pfr estimados para frutos de <i>P. aviculare</i> obtenidos de plantas crecidas aisladas (SC-Sin cultivo) o bajo un canopeo de un cultivo sembrado a baja (CCBD-Con cultivo a baja densidad) y alta (CCAD-Con cultivo a alta densidad) densidad.	137

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. 1. Cambios estacionales en el rango de temperaturas permisivas para la germinación y su relación con la dinámica de la temperatura del suelo. La temperatura máxima o límite superior (T_s , en rojo) y mínima o límite inferior (T_l , en negro) comprenden el rango dentro del cual la dormición no se expresa para distintas fracciones de la población (10, 50 o 90%). El área verde muestra el período en el que se produce la germinación para el 50% de la población debido a la superposición entre la temperatura del suelo y las temperaturas permisivas para la germinación de dicha fracción de la población en (a) una especie primavera-estival y (b) una especie otoño-invierno facultativa. El momento en que se dispersan las semillas está identificado dentro de cada panel. En especies primavera-estivales la dispersión ocurre a fines de verano/inicios de otoño, las bajas temperaturas del suelo del otoño e invierno determinan la salida de la dormición primaria, y el aumento de la temperatura posterior, la inducción en dormición. Los cambios en el nivel de dormición suelen ocurrir, principalmente, a expensas de variaciones en la T_l . En las especies otoño-invernales (b), las semillas son dispersadas en verano; las altas temperaturas que encuentran en el suelo determinan la salida de la dormición primaria, mientras que las bajas temperaturas de otoño e invierno promueven la inducción en dormición. Estos cambios se traducen principalmente en variaciones en la T_s . Modificado de Probert (1992) y Benech-Arnold et al. (2000)..... 6

Figura 1. 2. Cambios en el nivel de dormición en función del tiempo. Estos cambios son modulados principalmente por la temperatura e implican variaciones en el rango térmico permisivo para la germinación y en la sensibilidad de las semillas a otros factores, como la luz y temperaturas alternadas (Batlla y Benech-Arnold 2010; 2015).

Dentro del período de ‘mínima’ dormición se encuentra la oportunidad temporal de emergencia, durante la cual la germinación para cada fracción de la población ocurre a una tasa que depende de la temperatura y del contenido de agua del suelo. Se desconoce si estos cambios en el nivel de dormición de las semillas post-dispersión son afectados por el ambiente materno. Adaptado de Benech-Arnold et al. (2000). 9

Figura 1. 3. (a) Representación esquemática de corte longitudinal de un fruto (aquenio) de *P. aviculare* y sus principales componentes (Neubauer 1971; Wolf y McNeill 1986). En general, se hará referencia a la semilla como agente de dispersión y sólo se hablará de fruto cuando se analicen los componentes del fruto o la semilla que imponen la dormición. El rol de los distintos componentes en la determinación del nivel de dormición ha sido poco establecido en *P. aviculare*. (b) Representación esquemática de corte transversal de una semilla de *A. hybridus* y sus principales componentes. El fruto es un pixidio uniseminado dehiscente que libera tempranamente la semilla (Weaver y McWilliams 1980; Irving et al. 1981; Costea et al. 2001). La bibliografía indica que las semillas de *A. hybridus* presentan dormición impuesta por la cubierta seminal o testa (Faccini y Barat 1989). 18

Figura 2. 1. Vista de experimentos que consistieron en generar plantas de *P. aviculare* en distintas fechas de siembra y exponerlas a diferentes fotoperíodos desde floración. 30

Figura 2. 2. Producción de semillas por planta de *P. aviculare* para cada fecha de siembra y tratamiento de fotoperíodo realizados en (a) 2015/16, (b) 2016/17 y (c) 2017/18. +2 h y +4 h indican la extensión del fotoperíodo. Las columnas representan la media y las barras verticales, el error estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$) según las pruebas de comparación de Tukey

realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). 38

Figura 2. 3. Germinación acumulada (%) para semillas de *P. aviculare* incubadas a (a) 15 y (b) 10/24 °C durante 15 d luego de 0 (i.e. a cosecha), 10, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,8 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas en cuatro fechas diferentes realizadas en 2015/16. Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. 39

Figura 2. 4. Germinación final (%) para semillas de *P. aviculare* incubadas a 10, 15, 20, 25 y 10/24 °C durante 15 d luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d de estratificación en (a) 1,6, (d) 4,8 y (c) 9,8 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de otoño y expuestas al fotoperíodo natural, plantas sembradas a principios del verano y plantas sembradas a fines del otoño pero expuestas a +4 h (2015/16). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. 40

Figura 2. 5. Germinación final (%) para semillas de *P. aviculare* incubadas a 10/24 °C durante 15 d luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,8 °C. Las semillas se recolectaron en dos momentos, C1 y C2 de la dispersión de plantas sembradas en (a) fines de otoño y expuestas al fotoperíodo natural, (b) a principios del verano y (c) a fines de otoño y expuestas a +4 h (2015/16). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. 41

Figura 2. 6. Germinación final (%) para semillas de *P. aviculare* incubadas a (a) 10/24 y (b) 15 °C durante 15 d luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,8 °C y de ser expuestas a un pulso de 20 min: de luz R con una intensidad de $28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, luz RL con una intensidad de $32 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ u oscuridad constante. Las semillas se obtuvieron

de plantas sembradas a fines de otoño expuestas al fotoperíodo natural, plantas sembradas a principios del verano y plantas sembradas a fines de otoño pero expuestas a +4 h (2015/16). Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar. 42

Figura 2. 7. Germinación final (%) para las semillas de *P. aviculare* incubadas a 15, 20, 25 y 10/24 °C durante 15 d, luego de 0, 1, 3, 6, 9, 15 y 20 d de almacenamiento en húmedo a (a) 19,8 y (b) 23,2 °C. Las semillas se estratificaron previamente a 4,8 °C durante 65 d y luego se transfirieron a estas condiciones de almacenamiento que inducen la dormición secundaria. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de otoño (y expuestas a condiciones naturales de fotoperíodo) y a inicios de verano (2015/16). Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar. 44

Figura 2. 8. Valores estimados de $T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$ (arriba) y los desvíos estándar de los límites (abajo) en función de la acumulación de TT de estratificación (°Cd) a 1,6, 4,8 y 9,8 °C para semillas de *P. aviculare*. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas en (a) fines de otoño y expuestas al fotoperíodo natural, (b) inicios del verano y (c) fines de otoño y expuestas fotoperíodo extendido +4 h (2015/2016). Las unidades de TT de estratificación se acumularon bajo un umbral de 13,5 °C. Las líneas/curvas gruesas representan los parámetros asociados al límite superior, mientras que las líneas/curvas finas representan a los parámetros asociados al límite inferior. Las ecuaciones que describen la relación entre los parámetros con el TT y sus R^2 se indican dentro de cada panel. Para el tratamiento de fotoperíodo, los desvíos estándar de ambos límites no mostraron un patrón de variación claro. Por ello, sus valores medios se indican dentro del panel correspondiente. Los análisis de regresión lineal y las pruebas de pendiente

(con un nivel de significancia del 5%) se realizaron con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina)... 46

Figura 2. 9. Valores estimados de $T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$ en función de la acumulación de TT de inducción en dormición secundaria ($^{\circ}\text{Cd}$) acumulado durante el almacenaje a 19,8 y 23,2 $^{\circ}\text{C}$ para semillas de *P. aviculare*. Las semillas se obtuvieron de (a) plantas sembradas a fines del otoño (y expuestas a fotoperíodo natural) y (b) plantas sembradas a inicios del verano (2015/16). Las unidades de TT se acumularon por encima de una temperatura umbral de 6 $^{\circ}\text{C}$. Las líneas gruesas se refieren al límite superior, mientras que las líneas finas refieren al límite inferior. Las ecuaciones que describen la relación entre los parámetros con el TT y sus R^2 se indican dentro de cada panel. Los análisis de regresión y las pruebas de pendiente (con un nivel de significación del 5%) se realizaron con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina)..... 47

Figura 2. 10. Emergencia final de plántulas de *P. aviculare* (%) obtenida en 7 extracciones realizadas desde abril a enero. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de otoño (fotoperíodo natural y +4 h) e inicios de verano (2015/16). Las semillas se enterraron en el suelo a cosecha: 1 de febrero (D1) para las plantas sembradas en otoño y el 8 de mayo (D2) para las plantas sembradas a inicios de verano. Las semillas de plantas sembradas a fines de otoño y cultivadas bajo fotoperíodo natural fueron enterradas también el 8 de mayo. Las barras representan la media ($n=4$) y las verticales, los errores estándar. Cuadro interno: Producción potencial de semillas $\pm\text{IC}$ (95%) modelada en base a las figuras 2.2 y S2.8; calculada para el total de plántulas emergidas. Supuestos: (i) todas las plántulas emergidas sobreviven, (ii) las condiciones

de crecimiento son óptimas y (iii) la menor producción de semilla alcanzable es cero....
..... 49

Figura 2. 11. Emergencia (%) observada de plántulas de *P. aviculare* a campo vs curvas de germinación simuladas. Las simulaciones se realizaron utilizando los modelos desarrollados con datos de germinación obtenidos bajo temperaturas de incubación constantes (Fig. 2.8 y 2.9), y los modelos que incorporan la respuesta de las semillas a la alternancia térmica (Fig. S2.7). Las semillas utilizadas en el experimento de campo se obtuvieron de plantas sembradas en (a) fines de otoño y (b) inicios de verano. Los símbolos representan la media (n= 4) de la emergencia observada a campo y las barras verticales, el error estándar. El área blanca indica el período durante el cual la emergencia aumentó con el tiempo y el área gris, aquel donde la emergencia disminuyó.
..... 51

Figura 2. 12. Las columnas horizontales refieren al período de germinación simulado para semillas de *P. aviculare* que se dispersaron a mediados de verano (D1) o de otoño (D2), según la figura S2.9. En azul (D1) y en rojo (D2), se representan los períodos simulados considerando tasas de salida e inducción en dormición variables (por efecto del ambiente materno); en amarillo (germinación para semillas dispersadas en D1, usando tasas de salida e inducción en dormición de D2) y en violeta (germinación para semillas dispersadas en D2, usando tasas de salida e inducción en dormición de D1) se representan escenarios alternativos en los cuales las tasas de salida e inducción en dormición no son afectadas por el ambiente materno. Dentro de las columnas, las secciones punteadas indican el período en el que todas las plantas son vegetativas; y las secciones a rayas muestran el período en el que coexisten plantas reproductivas y vegetativas, según la figura S2.10. La ventana de ocurrencia de heladas está

representada por el área gris (la línea punteada negra indica el período de máxima probabilidad, según la figura S2.8); el gradiente, junto con la flecha en la parte superior, en grises representan la intensidad de las heladas. El período de altas reducciones en la producción de semillas se muestra en naranja (Fig. S2.10). El efecto del ambiente materno sincronizó la germinación y maximizó el equilibrio entre reducir el riesgo de daños por heladas durante la etapa reproductiva y anticipar la emergencia para permitir una mayor reproducción. En cambio, en los escenarios alternativos (D1-D2 y D2-D1), se observó un adelanto o un retraso en el inicio de la germinación. El adelanto implicaría un mayor riesgo de daño por heladas durante la etapa reproductiva de las plantas. El retraso acortaría el período durante el cual las plantas producen semillas. .. 56

Figura 3. 1. Vista del experimento de extensión artificial del fotoperíodo llevado a cabo con plantas de *A. hybridus*..... 63

Figura 3. 2. (a) Fecundidad por planta, (b) Peso medio de 1000 semillas y (c) Altura media de las plantas para cada fecha de siembra de *A. hybridus* (2015/16). Las columnas representan la media ($n= 16$) y las barras horizontales, el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p<0,05$) según la prueba de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina)..... 69

Figura 3. 3. Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* luego de 0, 5, 10, 25, 60, 75 y 100 d de estratificación a 4,8 °C (paneles superiores) o almacenaje en seco a 25 °C (paneles inferiores). Las temperaturas de incubación se indican sobre cada panel (10, 15, 20, 25, 30 y 35 °C). Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de invierno, mediados de primavera, fines de primavera, inicios y mediados de verano

(2015/16). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. 70

Figura 3. 4. Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* incubadas a 10, 15, 20, 25 y 30 °C estratificadas a 9,6 °C (a) o almacenadas en seco a 5 °C (b) durante 0, 5, 10, 25,60, 75 y 100 d. En (a) las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de invierno, fines de primavera y mediados de verano. En (b) las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de invierno e inicios de verano. (c): Germinación acumulada (%) durante 15 d de incubación a 30 °C de semillas de *A. hybridus* con cubiertas perforadas luego de 100 d de estratificación a 9,6 °C o almacenaje en seco a 5 °C. Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. 71

Figura 3. 5. Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* a (a) 25 ° y (b) 20/30 °C estratificadas a 4,8 °C durante 0, 5, 10, 25, 60, 75 y 100 d. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de invierno e inicios de verano (2015/16). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. 72

Figura 3. 6. Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* con cubiertas intactas (líneas llenas) y perforadas (líneas de puntos) a los 0, 5, 10, 25, 60 y 75 d de estratificación a 4,8 °C. Las temperaturas de incubación se indican sobre cada panel (10, 15, 20, 25, 30 y 35 °C). Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a mediados de verano y que fueron expuestas a fotoperíodo natural corto (+0 h) o a fotoperíodo extendido +1,5 y +4 h durante la etapa reproductiva (2018). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. 74

Figura 3. 7. Germinación (%) de semillas de *A. hybridus* con cubiertas intactas o perforadas luego de 0, 25 y 75 d de almacenaje a 25 °C. Las semillas se obtuvieron de

plantas sembradas (a) a fines de invierno, (b) inicios y (c) mediados de verano (2015/16). Las temperaturas de incubación figuran en el eje x (25 y 30 °C). En (d): Espesor de cubiertas seminales de semillas cosechadas de plantas sembradas a fines de invierno, mediados de primavera y mediados de verano. En (e): Espesor de cubiertas seminales de semillas cosechadas de plantas a fotoperíodos contrastantes a partir de floración (natural o corto vs extendido +4 h). Las columnas representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p<0,05$) según la prueba de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina)..... 75

Figura 3. 8. Emergencia final (%) de plántulas de *A. hybridus* obtenida en 7 pruebas realizados a campo de julio a enero. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de invierno e inicios de verano (2015/16), enterradas en el suelo el 24 de marzo (D1, inicios de otoño) y el 21 de mayo (D2, mediados de otoño), respectivamente (como indican las flechas). Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar..... 77

Figura 3. 9. Valores estimados de los límites medios poblacionales ($T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$) del rango térmico permisivo para la germinación (paneles superiores) y desvíos estándar de los límites (paneles inferiores) para semillas de *A. hybridus* en función del tiempo de post-maduración. Las líneas finas y los círculos corresponden a los valores obtenidos para las semillas que se estratificaron a 4,8 °C; las líneas gruesas y los cuadrados se refieren al almacenaje a 25 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas en (a) fines de invierno, (b) mediados de primavera, (c) fines de primavera, (d) inicios de verano y (e) mediados de verano (2015/16). Las ecuaciones que describen la relación

entre los parámetros con el tiempo de post-maduración y los R^2 se indican en el Cuadro S3.3. Los análisis de regresión lineal y pruebas de pendiente (con un nivel de significancia del 5%) se realizaron con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina)..... 78

Figura 3. 10. (a) Evolución de la $T_{l(50)}$ (líneas continuas) en función del tiempo desde D1 para semillas dispersadas en distintos momentos (D1 y D2) debido a cambios en la fecha de siembra de las plantas (Fig. S3.13); precipitaciones (línea punteada azul); y temperatura media del suelo registrada en el experimento de campo (línea puenteada negra). (b) Emergencia promedio registrada a campo (columnas, estimada a partir de la figura 3.8), germinación simulada (líneas continuas) y evolución de la producción de semillas por planta \pm IC (95%) en función del tiempo desde D1. La producción de semillas por planta se modeló en función del momento de emergencia de la planta según datos de este trabajo. En negro: $T_{l(50)}$ y germinación simulada para semillas que fueron dispersadas en distintos momentos con distintos niveles de dormición. En verde: $T_{l(50)}$ y germinación simulada para un escenario alternativo, según el cual las semillas dispersadas más tarde presentan el mismo nivel de dormición que las dispersadas antes. El área sombreada/rayada verde indica el período donde se detectaron variaciones en la germinación simulada para cada escenario. 80

Figura 4. 1. Vista de los experimentos con carpas de polietileno y de los invernáculos en los cuales fueron crecidas las plantas de *P. aviculare* a partir de floración bajo diferentes temperaturas. 94

Figura 4. 2. Temperatura media diaria registrada durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas de *P. aviculare* en la planta madre en (a) las carpas a alta (AT) y baja (BT) temperatura, (b) los invernáculos a alta (AT) y baja (BT) temperatura,

y en el campo. Las flechas verdes indican el fin de cada experimento de ambiente materno..... 99

Figura 4. 3. Germinación final (%) de semillas de *P. aviculare* incubadas durante 15 d a 10, 15, 20, 25 y 10/24 °C luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d de estratificación a 1,6 (a) 4,7 (b) y 9,2 °C (c). Las semillas se obtuvieron de plantas crecidas en carpas a diferentes temperaturas (Carpa AT-Alta temperatura, Carpa BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de 25,38±5,61 y 22,46±4,85 °C, respectivamente). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. 101

Figura 4. 4. Germinación acumulada (%) de semillas de *P. aviculare* incubadas a 10/24 °C (arriba) o 15 °C (abajo) a 0 (agua destilada) o -4 BAR luego de ser estratificadas por (a) 0, (b) 12 y (c) 82 d a 4,7 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas crecidas en invernáculos a diferentes temperaturas (Invernáculo AT-Alta temperatura, Invernáculo BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de 29,88±4,63 y 20,69±3,64 °C, respectivamente). Los símbolos representan la media (n= 5) y las barras verticales, el error estándar. 101

Figura 4. 5. Germinación acumulada (%) de semillas de *P. aviculare* a 10/24 °C luego de (a) 0, 10, 15, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,7 °C y (b) 0 (i.e. a los 75 d de estratificación) 2, 3, 5, 7, 12, 17, 19, 22 y 27 d de almacenaje a 24 y 34 °C. Las semillas provinieron de plantas crecidas en invernáculos a diferentes temperaturas (Invernáculo AT-Alta temperatura, Invernáculo BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de 29,88±4,63 y 20,69±3,64 °C, respectivamente). Los símbolos representan la media (n= 5) y las barras verticales, el error estándar. 102

Figura 4. 6. Germinación acumulada (%) de semillas de *P. aviculare* incubadas a cosecha durante 15 d a (a) 10/24 °C y (b) 15 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas crecidas en cámaras a diferentes temperaturas (Cámara AT-Alta temperatura, Cámara BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de 17,7±0,6 y 27,6±2,1 °C, respectivamente). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. 103

Figura 4. 7. Germinación final (%) a (a) 10/24 °C y (b) 15 °C de semillas de *P. aviculare* estratificadas a 4,7 °C durante 0, 10, 25, 50 y 75 d luego de ser expuestas a 20 min de R (intensidad de 28 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), 20 min de RL (intensidad de 32 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) u oscuridad constante. Las semillas se obtuvieron de plantas crecidas en carpas a diferentes temperaturas (Carpa AT-Alta temperatura, Carpa BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de 25,38±5,61 y 22,46±4,85 °C, respectivamente). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. 105

Figura 4. 8. Germinación final (%) a (a) 10/24 °C y (b) 15 °C de semillas de *P. aviculare* que fueron estratificadas a 4,7 °C durante 0, 10, 25, 50 y 75 d luego de ser expuestas a 20 min de R (con una intensidad de 28 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) u oscuridad constante. Las semillas se obtuvieron de plantas crecidas en invernáculos a diferentes temperaturas (Invernáculo AT-Alta temperatura, Invernáculo BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de 29,88±4,63 y 20,69±3,64 °C, respectivamente). Los símbolos representan la media (n= 5) y las barras verticales, el error estándar. 106

Figura 4. 9. Emergencia final de plántulas de *P. aviculare* (%) obtenida en 5 extracciones realizadas en el campo. Las semillas se obtuvieron de plantas crecidas en carpas a diferentes temperaturas (Carpa AT-Alta temperatura, Carpa BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de 25,38±5,61 y 22,46±4,85 °C, respectivamente).

Las semillas se enterraron el 3 de enero (2018). Las columnas representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar. 107

Figura 4. 10. (a) TT de estratificación requerido para que germine el 25 y el 50% de la población de semillas de *P. aviculare* a 10/24 °C en función de la temperatura media experimentada por esas semillas durante su desarrollo y maduración en la planta madre. Los modelos se desarrollaron con datos de germinación final de semillas obtenidas de los experimentos realizados en carpas (estratificadas a 1,6, 4,7 y 9,2 °C; ■) e invernáculos (estratificadas a 4,7 °C; ●). El TT se calculó considerando una temperatura umbral de 13,5 °C para la salida de la dormición (Ver Capítulo 1). Las ecuaciones (IC= 95%) y R^2 figuran sobre las rectas ajustadas. Las líneas verticales roja (22,5±4,8 °C; BT) y azul (25,4±5,6 °C; AT) señalan la temperatura materna media considerada en cada simulación en (b). (b) TT de estratificación y temperatura del suelo registrada en el experimento de campo. Las líneas punteadas y las líneas gruesas refieren a las simulaciones para el 25% y el 50% de la población, respectivamente. Según la simulación, el 25% germinará el 15/06±2 d y el 21/06±2 d y el 50%, el 12/07±2 d y el 24/07±2 d, cuando las semillas provienen de un ambiente de mayor (25,4±5,6 °C; AT) y menor (22,5±4,8 °C; BT) temperatura, respectivamente. 108

Figura 4. 11. Tiempo de estratificación (d) a 4,7-4,8 °C (d) requerido para que germine el 50% de la población de semillas de *P. aviculare* bajo condiciones óptimas (i.e. a 10/24 °C y a la luz) en función (a) la temperatura y (b) el fotoperíodo que en promedio que experimentaron las semillas durante su desarrollo y maduración en la planta madre. Para el desarrollo de estos modelos se utilizaron datos obtenidos de plantas sembradas en distintas fechas y años (○) y expuestas a distintos fotoperíodos (●) maternos

(Capítulo 2) y temperaturas (●). Los coeficientes de correlación, las ecuaciones de la regresión y sus respectivos R^2 figuran dentro de cada panel. 109

Figura 5. 1. Vista de experimentos que consistieron en exponer a las plantas de *P. aviculare* a canopeos de cultivos de trigo sembrados a distintas densidades, mediasombras que redujeron la RFA y filtros que afectaron la R:RL del ambiente lumínico a partir de floración. 119

Figura 5. 2. Arriba: Producción de frutos por planta de *P. aviculare* para cada estación de crecimiento. Abajo: Peso medio del fruto de *P. aviculare* para cada estación de crecimiento. Las plantas fueron crecidas aisladas (SC-Sin cultivo) o debajo del canopeo de un cultivo sembrado a alta (CCAD-Con cultivo a alta densidad) o baja densidad (CCBD-Con cultivo a baja densidad) en (a) 2016, (b) 2017 y (c) 2018. Las columnas representan la media y las barras verticales, el error estándar. 128

Figura 5. 3. Composición espectral de la luz medida fuera (SC) y debajo del canopeo de un cultivo de trigo (CCAD)..... 129

Figura 5. 4. Germinación final (%) de frutos de *P. aviculare* incubados a 10/24 °C o a 15 °C durante 15 d luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,7 °C. Los frutos se obtuvieron de plantas expuestas a un canopeo de un cultivo sembrado a 250 pl m⁻² (CCAD-Con cultivo a alta densidad), 12 pl m⁻² sin (CCBD-Con cultivo a baja densidad) y con sombreo adicional (CCBD+↓RFA-Con cultivo a baja densidad y mediasombra) o plantas que se mantuvieron aisladas (SC-Sin cultivo) en (a) 2016, (b) 2017 y (c) 2018. En (b), las columnas verdes (CCAD) y negras (SC) muestran la germinación registrada en las bolsitas que contenían las semillas al momento de la exhumación (i.e. semillas

germinadas durante el período de entierro). Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar. 130

Figura 5. 5. Germinación acumulada (%) de frutos de *P. aviculare* incubados a (a) 0,5, (b) 2, (c) 5, (d) 10, (e) 15 y (f) 20 °C hasta que la germinación mostró un claro plateau. Los frutos se obtuvieron de plantas expuestas a canopeo (CCAD-Con cultivo a alta densidad y en (a) CCBD-Con cultivo a baja densidad) o plantas aisladas (SC-Sin cultivo), 2017. En (b), las fechas indican el tiempo al 50% de germinación para CCAD (verde) y SC (negro). Las figuras insertas (i) y (ii) representan la germinación de embriones a 0 y 25 °C. Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar. 130

Figura 5. 6. Germinación final (%) de frutos de *P. aviculare* estratificados 0, 10, 25, 50 y 75 d a 4,7 °C e incubados a (a) 10/24 o (b) 15 °C durante 15 d luego de 20 min de un pulso de R, RL u oscuridad constante. En (a), los frutos provinieron de plantas crecidas bajo de un canopeo (CCAD-Con cultivo a alta densidad) o plantas que se mantuvieron aisladas (SC-Sin cultivo), 2017. Las columnas en (a) y (c) muestran la germinación registrada en las bolsitas que contenían las semillas al momento de la exhumación (i.e. semillas germinadas durante el período de entierro). Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar. 131

Figura 5. 7. Germinación final (%) de frutos de *P. aviculare* incubados a 10/24 o 15 °C durante 15 d luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d a 4,7 °C. En (a), los frutos se obtuvieron de plantas crecidas bajo dos niveles de RFA (↓RFA y RFA; 2016). En (b), de plantas crecidas bajo distintas R:RL (↓R:RL y R:RL; 2017) y plantas “Sin filtros”. Los años y las temperaturas de incubación se indican sobre cada panel. Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar. 132

Figura 5. 8. Germinación final (%) de frutos de *P. aviculare* a 10/24 o 15 °C luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d a 4,7 °C luego de 20 min de un pulso de R, RL u oscuridad constante. En (a), los frutos se obtuvieron de plantas crecidas bajo dos niveles de RFA (↓RFA y RFA), 2016. En (b), de plantas crecidas bajo distintas R:RL (↓R:RL y R:RL) y plantas “Sin filtros”, 2017. Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. 133

Figura 5. 9. Imágenes de frutos y embriones de *P. aviculare*. El material se obtuvo de plantas crecidas aisladas (SC-Sin cultivo) o debajo del canopeo de un cultivo (CCAD-Con cultivo a alta densidad). El material fue embebido durante 18 h previo a la toma de las fotografías. Las fotografías se obtuvieron utilizando un estereoscopio conectado a una cámara LEICA EZ4 W®. 134

Figura 5. 10. Imágenes del pericarpio de frutos (aquenios) de *P. aviculare* obtenidos de (a) plantas que se cultivaron aisladas (SC-Sin cultivo) o (b) debajo del canopeo de un canopeo (CCAD-Con cultivo a alta densidad). Barra de escala de 20 µm. Las secciones se fotografiaron con un microscopio óptico Zeiss Axioplan (Oberkochen, Alemania) y se analizaron con el software Zeiss AxioCamERc 5s (Jena, Alemania). En (c): Espesor de pericarpios para cada uno de los tratamientos (SC-Sin cultivo y CCAD-Con cultivo a alta densidad). Las columnas representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias (p<0,05) según la prueba de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStatGroup, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).. 135

Figura 5. 11. (a) Curvas de imbibición (en % de peso fresco) de frutos de *P. aviculare* incubados a 15 °C durante 100 h, cuando comenzó la germinación. (b) Germinación acumulada (%) de frutos de *P. aviculare* a 15 °C hasta completar 15 d de incubación.

Los frutos se obtuvieron de plantas expuestas a un canopeo de un cultivo sembrado a 250 pl m⁻² (CCAD-Con cultivo a alta densidad), 12 pl m⁻² (CCBD-Con cultivo a baja densidad) o plantas que se mantuvieron aisladas (SC-Sin cultivo). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar..... 136

Figura 5. 12. Transmitancia (líneas gruesas) ±EE (líneas finas) de pericarpios de frutos de *P. aviculare* para diferentes longitudes de onda. Los frutos obtenidos de plantas expuestas a un cultivo de trigo sembrado a razón de 250 pl m⁻² (CCAD-Con cultivo a alta densidad), 12 pl m⁻² (CCBD-Con cultivo a baja densidad) o 0 pl m⁻² (SC-Sin cultivo). 137

Figura 5. 13. Germinación acumulada (%) de (a) frutos, (b) semillas, y (c, d) embriones y (e) semillas con pericarpios intercambiados (transferencia CCAD↔SC) de *P. aviculare* incubados a 10/24 °C durante 15 d en agua destilada (0 BAR) o en solución con PEG 6000 (-5 BAR). En (f), las semillas de *P. aviculare* fueron envueltas con sus propios pericarpios luego de haber sido extraídos. En (g), la mitad basal del pericarpio respecto de la radícula de los frutos de *P. aviculare* fue eliminada. Las pruebas se realizaron a cosecha utilizando frutos de plantas aisladas (SC-Sin cultivo) o crecidas bajo un canopeo de un cultivo sembrado a alta (CCAD-Con cultivo a alta densidad) o baja (CCBD-Con cultivo a baja densidad) densidad. Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar..... 138

Figura 5. 14. Emergencia final (%) de plántulas de *P. aviculare* para distintas fechas de extracción (indicada en cada figura). Luego de la extracción, los frutos se expusieron a (1) la luz solar, (2) un canopeo que redujo la R:RL de 1,13±0,05 a 0,32±0,19 u (3) oscuridad constante, y se volvieron a enterrar. En (a), los frutos se obtuvieron de plantas crecidas durante sus etapas reproductivas debajo del canopeo de un cultivo (CCAD-Con

cultivo a alta densidad) o plantas aisladas (SC-Sin cultivo), 2017. En (b), los frutos provinieron de plantas crecidas durante sus etapas reproductivas bajo condiciones contrastantes de RFA (\downarrow RFA y RFA), 2016. En (c), de plantas crecidas durante sus etapas reproductivas bajo diferentes R:RL (\downarrow R:RL y R:RL) y sin filtros, 2017. Las columnas representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. La viabilidad de los frutos durante el entierro se verificó mediante pruebas de germinación a 10/24 °C (Fig. S5.5). 140

Figura 6. 1. Diagrama de los cambios en el nivel de dormición de semillas de *P. aviculare* a lo largo del tiempo considerando el efecto de la fecha de siembra de la planta madre sobre las tasas de salida e inducción en dormición y las respuestas a la luz y a la alternancia térmica. Variaciones en la fecha de siembra determinaron cambios en el ambiente de maduración y el momento de dispersión de las semillas: en azul (semillas maduras y dispersadas más tempranamente) y rojo (semillas maduras y dispersadas más tardíamente). Semillas maduras y dispersadas más temprano presentaron una menor tasa de salida e inducción en dormición que las dispersadas más tarde. A su vez, semillas dispersadas antes presentaron mayores requerimientos de luz y alternancia térmica que aquellas dispersadas más tarde. Se desconoce si las condiciones experimentadas por las semillas determinan cambios en la respuesta de estas al contenido de agua del suelo. En verde: cambios en el nivel de dormición de semillas maduras y dispersadas en un mismo momento, pero que fueron expuestas a variaciones en el ambiente debido a la presencia de un canopeo durante su desarrollo y maduración en la planta madre. Estas semillas mostraron una mayor tasa de ampliación del rango térmico permisivo para la germinación durante la salida de la dormición, así como menores requerimientos de alternancia térmica y luz para germinar. Las llaves

representan las tasas afectadas por el efecto materno; a mayor tamaño, mayor tasa. Adaptado de Benech-Arnold et al. (2000) y del marco conceptual propuesto por Batlla y Benech-Arnold (2010; 2015)..... 155

Figura 6. 2. Cambios estacionales en el rango térmico permisivo para la germinación y su relación con la temperatura del suelo, considerando el efecto del ambiente materno en semillas de (a) *P. aviculare* y (b) *A. hybridus*. El momento de maduración y dispersión de las semillas se especifica en cada figura. La $T_{S(50)}$ se representa con líneas continuas y la $T_{I(50)}$, a rayas. La evolución de los límites muestra algunas diferencias relacionadas con características propias de cada especie y con la metodología empelada para su determinación. En *P. aviculare*, las variaciones en el nivel de dormición se cuantificaron como cambios en la tasa a la cual se amplió (Fig. 2.8) y estrechó (Fig. 2.9) el rango térmico, mientras que no se detectaron diferencias en el nivel de dormición a la dispersión. En *A. hybridus* (b), estas variaciones fueron principalmente explicadas por los distintos niveles de dormición cuantificados a la dispersión (Fig. 3.9). Las flechas grises señalan el hecho de que se desconoce si estas semillas presentan dormición secundaria, pero en función de la dinámica de emergencia observada en este y otros trabajos (Kruk 1992; Faccini y Vitta 2005), el esquema lo sugiere como una posibilidad. La línea punteada negra representa la temperatura del suelo. El área sombreada en verde en (a) y (b) muestra el período en el que se produce la emergencia para el 50% de la población debido al ingreso de la temperatura del suelo al rango térmico permisivo para la germinación de dicha fracción de la población (ingreso que ocurre más temprano en *P. aviculare* que en *A. hybridus*). Modificado de Probert (1992), adaptado de Benech-Arnold et al. (2000)..... 159

Figura 6. 3. (a) Representación esquemática de corte longitudinal de una semilla (fruto
aquenio) de *P. aviculare* y sus componentes afectados por la presencia de un canopeo
durante su formación en la planta madre. (b) Representación esquemática de corte
transversal de una semilla de *A. hybridus* y componentes afectados por el atraso de la
fecha de siembra de la planta madre, que determina la exposición de las semillas a un
fotoperíodo materno más corto..... 165

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
ABA	Ácido abscísico; hormona vegetal cuya función es considerado clave para la imposición y mantenimiento de la dormición.
ABA:GA	Relación entre el contenido de ABA y GAs.
Aprox.	Aproximadamente.
°C	Grados centígrados.
CCAD	Con cultivo sembrado a una ‘alta’ densidad; refiere a plantas madre que fueron expuestas al canopeo de un cultivo sembrado a razón de 250 pl m ⁻² a partir de floración.
CCBD	Cultivo sembrado a una ‘baja’ densidad; refiere a plantas madre que fueron expuestas al canopeo de un cultivo sembrado a razón de 12 pl m ⁻² a partir de floración.
D1 y D2	Momentos de entierro de semillas en función de su dispersión.
DE	Desvío estándar.
dm ³	Decímetros cúbicos.
µm	Micrómetros.
µmol	Micromoles.
BAR	Unidad de presión, aproximadamente igual a una atmósfera (1 atm).
BT-AT	Baja temperatura – Alta temperatura.
cm	Centímetro.
d	Día/s.
EtOH	Etanol.
E	Experimento.
EE	Error estándar.
FAA	Formaldehído, alcohol, acético.
FLU	Fluridone, inhibidor la síntesis de carotenoides precursors de la síntesis de ABA.
Fig.	Figura. Cuando se trate de una figura suplementaria, el número de figura estará acompañando por una S.
g	Gramos.
GAs	Giberelinas; hormona vegetal que promueve la germinación al amentar el potencial de crecimiento del embrión.
GA ₃	Giberelina 3.
h	Hora.
IC	Intervalo de confianza.
kg	Kilos.
L	Litros.
LFR	Tipo de respuesta de las semillas a la luz, del inglés, “low fluence response”.
M	Molar.
MJ	Megajoules.
MS	Mediasombra.
min	Minutos.
ml	Mililitros.

mm	Milímetros.
m ²	Metros cuadrados.
NaOH	Hidróxido de sodio.
O	Oeste.
P	Valor p (estadístico).
PAC	Paclobutrazol.
PEG	Polyethylene glycol.
pl	Planta/s.
P/P	Peso/Peso.
Pr	Fitocromo absorbente de R.
Pfr	Fitocromo forma activa absorbente de RL.
Pfr/Ptotal	Relación entre las formas de los fitocromos sobre el total.
P/V	Peso/Volumen.
r	Valor de coeficiente de correlación.
R	Rojo.
RL	Rojo lejano.
R:RL	Relación luz roja y roja lejana; cuando se utiliza para indicar un tratamiento materno hace referencia al control sin aplicación de filtros que reduzcan la R:RL.
↓R:RL	Baja relación luz roja y roja lejana.
RFA	Radiación fotosintéticamente activa; cuando se utiliza para indicar un tratamiento materno hace referencia al control sin aplicación de mediasombras.
↓RFA	Baja radiación fotosintéticamente activa.
RCME	Raíz del error cuadrático medio.
S	Sur.
SC	Sin cultivo; refiere a plantas madre que fueron crecidas durante todo su ciclo sin ser expuestas a una cubierta vegetal.
T _b	Temperatura base por debajo de la cual la tasa de germinación es nula.
T _l	Temperatura Límite Inferior del rango térmico permisivo para la germinación, que es la temperatura mínima a la cual las semillas pueden germinar en un momento dado.
T _o	Temperatura óptima, aquella a la cual la tasa de germinación es máxima.
T _s	Temperatura Límite Superior del rango térmico permisivo para la germinación, que es la temperatura máxima a la cual las semillas pueden germinar en un momento dado.
TT	Tiempo térmico (°Cd).
UV	Ultravioleta.
V6	6 hojas.
VLFR	Tipo de respuesta de las semillas a la luz, del inglés “very low fluence response”.

RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue estudiar el efecto del ambiente materno sobre el nivel de dormición y la emergencia a campo en semillas de *Polygonum aviculare* y *Amaranthus hybridus*. Para ello se obtuvieron semillas de plantas (i) sembradas en diferentes fechas, (ii) expuestas a variaciones en el fotoperíodo, la temperatura, la RFA y la R:RL de la luz, y (iii) expuestas a un canopeo vegetal. Las semillas obtenidas fueron almacenadas bajo diferentes condiciones o enterradas en el campo para evaluar su germinación y emergencia, respectivamente. Los resultados mostraron que, en ambas especies, la fecha de siembra afectó el nivel de dormición las semillas. Este efecto determinó que semillas maduras en diferentes momentos sincronizaran temporalmente su emergencia dentro del período que permite a los nuevos individuos maximizar su capacidad reproductiva. El fotoperíodo y la temperatura participarían de esta regulación. Por otro lado, las semillas de *P. aviculare* que maduraron debajo de un canopeo presentaron una menor dormición y una mayor emergencia que aquellas que no fueron expuestas al canopeo, lo cual se asoció a cambios en la composición y el grosor de las cubiertas, y en el potencial de crecimiento del embrión. Las variables lumínicas más afectadas por la presencia de un canopeo, la R:RL y la RFA, mostraron efectos antagónicos, sugiriendo que el efecto del canopeo se debió a los cambios en la cantidad de RFA. A su vez, los resultados obtenidos sugieren que la temperatura no está involucrada en esta regulación. Así, mientras la regulación ambiental que ejercen el fotoperíodo y la temperatura contribuiría a sincronizar la emergencia de la descendencia, el efecto del canopeo se asociaría con la posibilidad de que cierta fracción de la población desarticule su emergencia en relación a la de sus competidores.

Palabras clave: Ambiente materno, canopeo, dormición de semillas, emergencia, fecha de siembra, fotoperíodo, modelos predictivos, RFA, R:RL, temperatura.

ABSTRACT

The aim of this thesis was to study the effect of the maternal environment on seed dormancy and subsequent field emergence patterns in *Polygonum aviculare* and *Amaranthus hybridus* seeds. To achieve these goals, seeds were obtained from plants (i) sown at different dates, (ii) exposed to variations in the photoperiod, the temperature, the incident PAR, and the R:FR ratio. Results showed that, in both species, the sowing date affected seed dormancy. This effect determined that seeds matured at different times were able to temporally synchronize the emergence with that period that guarantees the greatest reproductive output of the new individuals. Photoperiod and temperature would be associated with this regulation. In addition, *P. aviculare* seeds matured under the presence of a vegetative canopy presented a lower dormancy and higher emergence than those obtained from plants that were kept away from the canopy, which was associated to changes in seed coat composition and thickness and changes in embryo growth potential. The light variables more affected by the presence of a vegetative canopy, the R:FR ratio and the incident PAR, showed antagonistic effects, suggesting that canopy effect resulted from changes in the PAR quantity. Moreover, results suggest that the temperature is not involved in this regulation. In summary, while temperature and photoperiod could be factors associated with emergence synchronization, the responses to the presence of a canopy seem to be related with the possibility of desynchronizing the emergence of certain fraction of the seed population in relation to neighbors' emergence. The results presented in this work show the relevant ecological role of the maternal environment on seed dormancy in both species.

Keywords: Canopy, emergence, maternal environment, PAR, predictive models, photoperiod, R:FR, seed dormancy, sowing date, temperature.

CAPÍTULO 1

Introducción general: revisión de antecedentes y presentación del problema

1.1. Introducción general

Las malezas constituyen un problema persistente en los sistemas agrícolas, ya que determinan importantes pérdidas económicas a través de sus efectos directos sobre el rendimiento de los cultivos y la calidad de los productos cosechados (Oerke 2006). A su vez, las malezas provocan efectos indirectos, como el aumento de los costos de producción y efectos ambientales, los cuales incluyen consecuencias sobre la biodiversidad, el funcionamiento de los ecosistemas, servicios ecosistémicos y otras externalidades como la contaminación (Buhler et al. 1997; Simberloff et al. 2013). Esto, en combinación con el aumento constante en el número de biotipos resistentes a herbicidas, refuerza la idea de que las estrategias de control y manejo de las malezas deben progresar para mantenerse al frente de los procesos de evolución y adaptación de las malezas, y para posibilitar el desarrollo de tecnologías de control más eficaces y sustentables (Buhler et al. 1997; Neve et al. 2009; Westwood et al. 2018).

Para minimizar las pérdidas de rendimiento de los cultivos y mantener bajos niveles de población de malezas a largo plazo es de suma importancia comprender las bases biológicas y ecológicas que subyacen al proceso de enmalezamiento, así como determinar las etapas fenológicas que son críticas en su regulación (Radosevich et al. 1997). Esto incluye no sólo lograr un conocimiento más profundo de aspectos como el crecimiento y el desarrollo de las plantas, las respuestas al estrés, la adaptación de las poblaciones en respuesta a presiones de selección, sino también mejorar la capacidad de predecir aquellos procesos que aseguren el éxito de las malezas en contextos variables. Un proceso considerado clave en este sentido es el fenómeno de la emergencia. Por un

lado, desde un punto de vista agronómico, la emergencia se considera una ventana crítica para la aplicación de prácticas de control porque las plantas son más vulnerables en el estado de plántulas (Fenner 1987; Radosevich et al. 1997). Por lo tanto, el éxito de estas prácticas depende, en gran medida, de alcanzar al mayor número de individuos en dicho estado (Batlla y Benech-Arnold 2007). En este sentido, el desarrollo de modelos que permitan predecir qué proporción del banco de semillas germinará en un momento dado sería una herramienta útil para determinar el momento más adecuado para el control de las malezas y, en consecuencia, aumentar la eficacia de los métodos de control (Allen et al. 2007; Batlla y Benech-Arnold 2007, 2010). Además, estos modelos podrían emplearse para tomar decisiones orientadas al manejo de las malezas relacionadas con el diseño del cultivo, tales como la elección de la densidad, el sistema de rotación y la fertilización, entre otras (Murphy y Lemerle 2006).

Desde una perspectiva ecológica, el momento en que emergen las malezas es crítico, ya que determina las condiciones ambientales y de competencia que las plantas explorarán durante su ciclo de vida. Por lo tanto, el momento de emergencia impactará directamente sobre la capacidad reproductiva (entiéndase como ‘reproductive fitness’) de los individuos (Kalisz 1986; Donohue 2009; Burghardt et al. 2015; Gremer et al. 2019). Esto puede afectar el tamaño del banco de semillas del suelo, e influir sobre la dinámica de las poblaciones, la adaptación local y la persistencia de las especies (Kalisz y McPeck 1992; Donohue et al. 2010; Levine et al. 2011; Gremer y Venable 2014); estos procesos son determinantes del tamaño que alcanzan las poblaciones de malezas en los sistemas agrícolas. Además, existen evidencias que indican que en un contexto de cambio climático, las variaciones en las condiciones ambientales podrían afectar procesos asociados con la temporalidad de la emergencia (Kimball et al. 2010; Levine et al. 2011; Huang et al. 2016). Por lo tanto, ser capaces de predecir los patrones

temporales de emergencia de las malezas contribuiría no sólo a mejorar la aplicación de tácticas de control y decisiones de manejo de cultivos, sino que también serviría para simular y comprender cómo podrían las poblaciones y las comunidades responder a escenarios ecológicos y climáticos actuales y futuros.

Dado que las semillas de numerosas especies maleza presentan dormición, la emergencia en estas especies depende de los cambios que experimentan los bancos de semillas en su dinámica estacional de salida y entrada en dormición (Batlla y Benech-Arnold 2010). En base a esto, se han desarrollado marcos conceptuales y modelos que permiten analizar y simular la dinámica de la dormición en función de los factores ambientales que la regulan. Estos modelos suelen tener como punto de partida el momento en que las semillas son dispersadas e ingresan al banco de semillas del suelo. Se ha demostrado, sin embargo, que en numerosas especies el nivel de dormición que presentan las semillas al momento de su dispersión es fuertemente afectado por las condiciones ambientales que estas experimentaron durante su desarrollo y maduración en la planta madre, fenómeno que en el marco de este trabajo se define como “efecto del ambiente materno”. A pesar de los avances logrados, es posible afirmar que se desconoce de qué forma y con qué magnitud el ambiente explorado por las semillas durante su desarrollo y maduración podría afectar la dinámica de la dormición de los bancos del suelo y la ubicación temporal de la ventana de emergencia en el campo. Establecer y, eventualmente, cuantificar la forma en que opera el efecto del ambiente materno permitiría ampliar nuestro entendimiento sobre el comportamiento de las malezas en escenarios variables, así como aumentar la capacidad predictiva y explicativa de los modelos y marcos conceptuales existentes, contribuyendo al manejo futuro de las poblaciones naturales y al desarrollo de prácticas de control y estrategias de manejo de malezas más eficaces y sustentables (Footitt et al. 2019).

1.1.1. Definición y caracterización de la dormición

La dormición puede ser definida como un atributo propio de las semillas que impide su germinación bajo condiciones hídricas, térmicas y gaseosas que, en otras circunstancias, hubieran sido apropiadas para la germinación (Benech-Arnold et al. 2000). Se trata de una característica adaptativa compleja influenciada por numerosos genes y factores ambientales que interactúan determinando las condiciones requeridas para la germinación (Koornneef et al. 2002; Finch-Savage y Footitt 2012). Es posible diferenciar distintos tipos de dormición. En semillas que presentan dormición fisiológica, la dinámica de la dormición es, al menos en parte, mediada por variaciones en el contenido y la sensibilidad de los tejidos a distintas hormonas vegetales, como el ABA (hormona responsable de la imposición y el mantenimiento de la dormición) y las GAs (hormonas que promueven la germinación al aumentar el potencial de crecimiento del embrión y debilitar los tejidos que rodean la radícula). Se ha propuesto que la dormición depende de la ABA:GA. Así, mientras el mantenimiento de la dormición depende de una alta relación entre ambas hormonas, la salida de la dormición implica una disminución de la ABA:GA (Finch-Savage y Leubner-Metzger 2006). La dormición puede estar impuesta al embrión o impuesta por las cubiertas de la semilla y/o del fruto. Las cubiertas pueden imponer dormición mediante (i) la restricción a la liberación de inhibidores, la entrada de agua o el intercambio gaseoso, (ii) la restricción mecánica a la expansión del embrión, (iii) el suministro de inhibidores al embrión y/o (iv) la filtración de la luz que llega al embrión (Debeaujon et al. 2007; Kucera et al. 2005). Existen, además, otros tipos de dormición: morfológica (cuando los embriones están subdesarrollados y sólo requieren tiempo para crecer y germinar), física (dada por cubiertas impermeables al agua) y las combinaciones morfo-fisiológica y fisisiológica (Baskin y Baskin 2004). Sin embargo, la dormición fisiológica es la forma

de dormición predominante en semillas de especies de climas templados (Finch-Savage y Leubner-Metzger 2006).

La dormición no es un carácter cualitativo de las semillas sino que, por el contrario, puede variar en una escala continua de grados (Vegis 1964). Por ello es preciso hablar de niveles de dormición. Para abordar los cambios estacionales en el nivel de dormición de los bancos de semillas resulta necesario primero distinguir la dormición primaria y la dormición secundaria (Fig. 1.1). Según Karssen (1982), dormición primaria es la que presentan las semillas al momento de la dispersión de la planta madre. En cambio, dormición secundaria es aquella que puede ser inducida en semillas no dormidas o re-inducida en semillas que han salido o presentan un bajo nivel de dormición (Batlla y Benech-Arnold 2010).

Los cambios en el nivel de dormición son graduales. Usualmente las semillas son dispersadas de la planta madre con un nivel relativamente alto de dormición primaria, el cual disminuye conforme pasa el tiempo (Fig. 1.1). Cuando el nivel de dormición es relativamente bajo germinará una fracción variable de la población de semillas en función de las condiciones ambientales imperantes. Otra fracción, dada ciertas condiciones, puede entrar en dormición secundaria (Benech-Arnold et al. 2000; Batlla y Benech-Arnold 2010). Así, la salida de la dormición primaria seguida de subsecuentes re-inducciones en dormición secundaria suele determinar la existencia de ciclos estacionales de cambios en el nivel de dormición en semillas de numerosas especies malezas que componen el banco de semillas del suelo (Courtney 1968; Baskin y Baskin 1985).

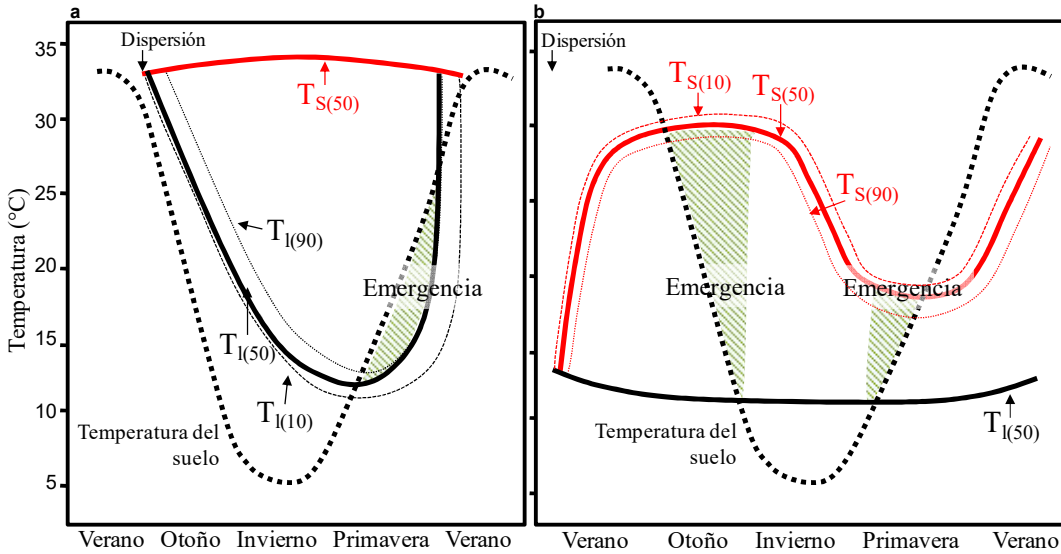


Figura 1. 1. Cambios estacionales en el rango de temperaturas permisivas para la germinación y su relación con la dinámica de la temperatura del suelo. La temperatura máxima o límite superior (T_s , en rojo) y mínima o límite inferior (T_l , en negro) comprenden el rango dentro del cual la dormición no se expresa para distintas fracciones de la población (10, 50 o 90%). El área verde muestra el período en el que se produce la germinación para el 50% de la población debido a la superposición entre la temperatura del suelo y las temperaturas permisivas para la germinación de dicha fracción de la población en (a) una especie primavera-verano y (b) una especie otoño-invierno facultativa. El momento en que se dispersan las semillas está identificado dentro de cada panel. En especies primavera-verano la dispersión ocurre a fines de verano/inicios de otoño, las bajas temperaturas del suelo del otoño e invierno determinan la salida de la dormición primaria, y el aumento de la temperatura posterior, la inducción en dormición. Los cambios en el nivel de dormición suelen ocurrir, principalmente, a expensas de variaciones en la T_l . En las especies otoño-invernales (b), las semillas son dispersadas en verano; las altas temperaturas que encuentran en el suelo determinan la salida de la dormición primaria, mientras que las bajas temperaturas de otoño e invierno promueven la inducción en dormición. Estos cambios se traducen principalmente en variaciones en la T_s . Modificado de Probert (1992) y Benech-Arnold et al. (2000).

El nivel de dormición que presenta una determinada población de semillas establece el rango de condiciones ambientales en el que las semillas son capaces de germinar (Fig. 1.1 y 1.2). Así, en relación a la temperatura, semillas con un alto nivel de dormición son capaces de germinar en un estrecho rango de temperaturas. Conforme esas semillas salen de la dormición, el rango de temperaturas en el que pueden germinar se amplía, lo que equivale a decir que la dormición se expresa en un rango limitado de temperaturas (Benech-Arnold et al. 2000; Batlla y Benech-Arnold 2015). Por ejemplo, en semillas de especies primavera-verano, la ampliación del rango térmico permisivo

para la germinación suele manifestarse como incrementos en la capacidad de las semillas de germinar a temperaturas cada vez menores (Fig. 1.1a). Contrariamente, en especies otoño-invernales, la ampliación del rango térmico suele deberse, principalmente, a cambios en la capacidad de las semillas de germinar a altas temperaturas (Fig. 1.1b). Por su parte, la inducción en dormición secundaria suele implicar un estrechamiento del rango de temperaturas permisivas para la germinación (Fig. 1.1 y 1.2), lo que equivale a decir que la expresión de la dormición se produce en un rango térmico cada vez más amplio (Benech-Arnold et al. 2000; Batlla y Benech-Arnold 2015). Continuando con el ejemplo anterior, este estrechamiento del rango térmico permisivo para la germinación suele manifestarse como una reducción de la capacidad de germinar, principalmente a bajas temperaturas en semillas de especies primavero-estivales (Fig. 1.1a), y a altas temperaturas en semillas de especies otoño-invernales (Fig. 1.1b). Por ello, la dormición es un carácter fuertemente vinculado a la capacidad adaptativa de las plantas al permitirles restringir su ventana de emergencia a aquel período que resulta adecuado para su establecimiento y posterior desarrollo.

Los cambios en el nivel de dormición de las semillas pueden ser descriptos a través de los parámetros que permiten caracterizar la amplitud del rango de temperaturas permisivas para la germinación, es decir, las temperaturas mínima y máxima a la cual las semillas son capaces de germinar. Estos parámetros suelen ser denominados límites inferior (T_i) y superior (T_s) del rango térmico permisivo para la germinación (Ellis et al. 1986; Washitani 1987; Batlla y Benech-Arnold 2015). Dado que el nivel de dormición suele diferir entre los individuos que componen a la población de semillas, se considera que los límites térmicos se distribuyen normalmente dentro de la población (Batlla y Benech-Arnold 2015). Estas diferencias se manifiestan como variaciones en el valor de la temperatura del límite inferior, T_i , y superior, T_s , del rango térmico entre las distintas

fracciones que componen a la población de semillas (en el ejemplo de la figura 1.1 se observan las variaciones para el 10, 50 y 90% de la población). En base a esta conceptualización, se han desarrollado distintos modelos con el fin de predecir los cambios en el rango térmico permisivo para la germinación en semillas de distintas especies maleza (entre ellos: Bouwmeester y Karssen 1992; Vleeshouwers y Bouwmeester 2001; Batlla y Benech-Arnold 2003; Malavert et al. 2017). De acuerdo a este marco conceptual, la germinación y subsecuente emergencia normalmente tienen lugar cuando las condiciones ambientales se superponen con el rango de condiciones permisivas para la germinación, es decir cuando la temperatura del suelo ingresa al rango térmico (i.e. aquel limitado por la T_1 y la T_S) dentro del cual la dormición no se expresa (Fig. 1.1). Por lo tanto, para predecir la germinación y la emergencia de las malezas en el campo resulta necesario estimar los parámetros térmicos poblacionales que caracterizan el nivel de dormición (y sus respectivos desvíos estándar) en función de las variables del ambiente que los modulen.

1.1.2. Factores ambientales que modulan el nivel de dormición de las semillas

En general, el nivel de dormición disminuye en respuesta a factores ambientales que caracterizan a las estaciones que preceden a los períodos con condiciones favorables para el establecimiento y posterior desarrollo de las plantas; y aumenta en respuesta a factores que caracterizan a los períodos que preceden a las estaciones que resultan adversas (Karssen 1982). El principal factor ambiental que modula estos cambios es la temperatura, en interacción con el contenido hídrico del suelo (Fig. 1.1 y 1.2; Batlla y Benech-Arnold 2010, 2015). Así, en especies primavera-estivales, la salida de la dormición primaria suele ocurrir cuando las semillas embebidas son expuestas a las bajas temperaturas del otoño y el invierno (estratificación; Baskin y Baskin 1985). Esto determina que la germinación ocurra en primavera, lo cual asegura a las plantas ubicar

su período reproductivo cuando el riesgo de daño por helados es menor. Por el contrario, la inducción en dormición suele ser promovida por las altas temperaturas del fin de la primavera y del verano. Por su parte, las semillas de especies otoño-invernales suelen mostrar el patrón inverso: las altas temperaturas del verano promueven la salida de la dormición y las bajas temperaturas de otoño e invierno, la inducción (Karssen 1982; Batlla y Benech-Arnold 2010). Estas dinámicas evidencian el valor adaptativo de la dormición, al acotar la ventana de emergencia a aquella estación que resulta adecuada para el posterior desarrollo de las plantas (Karssen 1982).

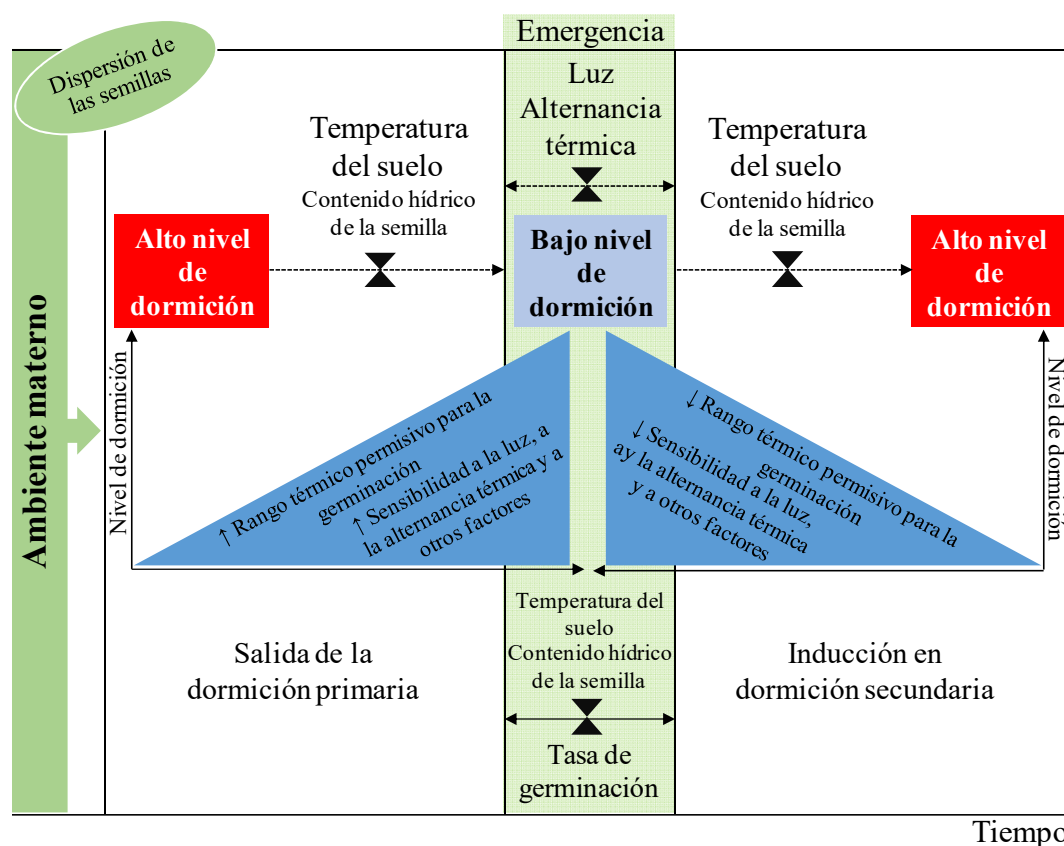


Figura 1. 2. Cambios en el nivel de dormición en función del tiempo. Estos cambios son modulados principalmente por la temperatura e implican variaciones en el rango térmico permisivo para la germinación y en la sensibilidad de las semillas a otros factores, como la luz y temperaturas alternadas (Batlla y Benech-Arnold 2010; 2015). Dentro del período de ‘mínima’ dormición se encuentra la oportunidad temporal de emergencia, durante la cual la germinación para cada fracción de la población ocurre a una tasa que depende de la temperatura y del contenido de agua del suelo. Se desconoce si estos cambios en el nivel de dormición de las semillas post-dispersión son afectados por el ambiente materno. Adaptado de Benech-Arnold et al. (2000).

1.1.3. Factores ambientales que terminan la dormición

En muchas especies, la dormición impone, además, una serie de restricciones para la germinación que solamente son eliminadas luego de que la semilla haya sido expuesta a señales o factores ambientales específicos (Fig. 1.2). Si bien es posible mencionar distintos factores (nitratos, etileno, dióxido de carbono, entre otros), la luz y las temperaturas alternadas constituyen las señales más importantes y el tipo de requerimiento más frecuente en semillas adaptadas a los agroecosistemas (Benech-Arnold et al. 2000; Finch-savage y Footitt 2017). Estos factores consisten en señales asociadas al ambiente inmediato percibido por las semillas, el cual es alterado, por ejemplo, por la presencia y disposición de un canopeo vegetal, o la profundidad de entierro de las semillas en el suelo, que determinan variaciones en la composición espectral de la luz y la amplitud térmica. En semillas que presentan estos requerimientos adicionales para terminar la dormición (Benech-Arnold et al. 2000), las variaciones en el nivel de dormición suelen expresarse no sólo como cambios en la amplitud del rango térmico permisivo para la germinación, sino también como cambios en la sensibilidad de las semillas a los factores que terminan la dormición (Batlla y Benech-Arnold 2010).

En cuanto a la respuesta a la luz, el estímulo lumínico es percibido por las semillas a través de fotorreceptores específicos (pigmentos no fotosintéticos), particularmente los pertenecientes a la familia de los fitocromos. Estos fotorreceptores median muchas respuestas al sombreado por la vegetación al detectar cambios en la R:RL, aunque también pueden provocar respuestas al sombreado al detectar cambios en la irradiancia total (Aphalo et al. 1999). Los fitocromos presentan dos formas inter-convertibles: la inactiva (Pr) y activa (Pfr) para la terminación de la dormición, las cuales presentan su máxima absorción alrededor de los 660 nm (luz R) y los 730 nm (luz RL), respectivamente; aunque existe una superposición considerable entre los espectros de

absorción de ambas formas, así como también un pico secundario de absorbancia en la región de la luz azul (Casal y Sánchez 1998; Casal et al. 2003). Los fitocromos son sintetizados en las semillas en la forma Pr y la proporción que pasa a la forma activa depende del ambiente lumínico (i.e. composición espectral de la luz e irradiancia) al que las semillas -embebidas- son expuestas. A través de la conversión del fitocromo a Pfr (que aumenta la Pfr:Ptotal), la luz desencadena la síntesis de GAs (Kucera et al. 2005; Seo et al. 2009). Esta respuesta implica una inmediata acumulación de GAs que determina la activación de distintos mecanismos (i.e. degradación de la pared celular, aumento del potencial de crecimiento del embrión, etc.), los cuales provocan la terminación de la dormición y la consecuente germinación.

La luz puede promover o inhibir la germinación, dependiendo de su composición espectral (Cumming 1963; Fenner 1980), el estado fisiológico de las semillas y otros factores como la temperatura. El balance entre fitocromos, dependiente del ambiente lumínico, determina, a su vez, la existencia de distintos tipos de respuesta. Frecuentemente, las semillas presentan un tipo de respuesta conocida como LFR, la cual se satura con altos niveles de Pfr, como los obtenidos al exponer a las semillas a un pulso saturante de luz R, y puede anularse o revertirse por completo si el contenido de Pfr se reduce con un pulso de RL (Scopel et al. 1991). Este tipo de respuesta reversible ha generado un considerable interés por su vinculación con la regulación de la germinación bajo las condiciones lumínicas que suelen experimentar las semillas ubicadas bajo el canopy de un cultivo (Cumming 1963; Smith 1973; Frankland y Taylorson 1983). Asimismo, ciertos procesos mediados por fitocromos pueden ser provocados por tratamientos lumínicos que establecen bajos niveles de Pfr (Scopel et al. 1991). Se trata de la respuesta VLFR, la cual se satura con la cantidad de Pfr que se produce al exponer a las semillas a un pulso saturante de RL (Botto et al. 1996; Casal y

Sánchez 1998); esto se explica por el solapamiento existente entre los espectros de absorción de ambas formas de fitocromo (Pfr y Pr) que imposibilita obtener valores nulos de Pfr o Pr. Un tercer modo de acción denominado respuesta de alta irradiancia (HIR) tiene lugar cuando la exposición prolongada al RL inhibe la germinación, antagonizando con la respuesta LFR (Hartmann, 1966; Frankland y Taylorson 1983; Arana et al. 2007). Finalmente, en ocasiones las semillas son capaces de germinar cuando se incuban en oscuridad, lo cual puede indicar que una determinada proporción de Pfr ya estaba presente en las semillas y/o que la germinación no requiere Pfr (Casal y Sánchez 1998).

A su vez, las semillas de numerosas especies responden a las temperaturas alternadas (Thompson y Grime 1983; Batlla y Benech-Arnold 2015). La respuesta de las semillas a este factor es todavía un proceso fisiológico poco comprendido (Kendall y Penfield 2012). A menudo, estas respuestas son mayores o sólo se detectan si las semillas están también expuestas a otras señales como la luz, de manera tal que se producen interacciones positivas entre ambos factores (Vincent y Roberts 1977; Arana et al. 2017). Los atributos más importantes que determinan el efecto de las temperaturas alternadas son la amplitud del ciclo, la temperatura media, los períodos relativos por encima y por debajo de la temperatura media durante cada ciclo de exposición (i.e. serie consecutiva de alternancias idénticas) y el número de ciclos, características que varían con la profundidad de entierro de las semillas en el suelo. Por ello, la alternancia térmica es una señal ambiental que se encuentra vinculada a la posibilidad de las semillas de detectar su distribución en el perfil del suelo. Al igual que la luz, su rol ecológico ha sido asociado a un mecanismo que permite a las semillas percibir si las condiciones inmediatas son adecuadas para la germinación y su posterior establecimiento y desarrollo.

1.1.4. Efecto del ambiente materno sobre la dormición

El nivel de dormición primaria de las semillas al momento de su dispersión está determinado genéticamente y es fuertemente influenciado por las condiciones ambientales que estas experimentaron durante su desarrollo y maduración en la planta madre, fenómeno comúnmente denominado “efecto del ambiente materno” (Roach y Wulff 1987; Fenner 1991). El efecto del ambiente materno determina la existencia de complejas interacciones entre los descendientes y los genotipos maternos que influyen no sólo sobre el fenotipo de las semillas, sino también sobre el de las plántulas y plantas adultas. Este fenómeno surge de la contribución de la planta madre al fenotipo de su descendencia que ocurre más allá de la contribución cromosómica esperada de cada padre y puede operar a través de distintos mecanismos. Por ejemplo, se ha demostrado que existen variaciones en la ABA:GA, la síntesis de ABA y la señalización de GAs (lo cual sugiere variaciones en la fisiología de los embriones) ante cambios en el ambiente en que maduran las semillas (Kendall et al. 2011). A su vez, en numerosas especies se ha detectado que variaciones en el ambiente materno determinan cambios en el grosor y la composición de las cubiertas de las semillas y/o frutos (Penfield y MacGregor 2017). En general, se ha documentado que aquellas semillas maduras en la planta madre bajo condiciones ambientales que determinan un menor nivel dormición a la dispersión suelen presentar cubiertas más delgadas (Karssen 1970; Pourrat y Jacques 1975; Ceccato et al. 2015). Además, este efecto puede actuar a través del suministro de recursos y otras hormonas (que puede influir en el metabolismo de las semillas y la expresión génica durante el desarrollo e incluso durante la post-dispersión), efectos genéticos causados por la herencia materna de plástidos, o bien, mediante la determinación del ambiente post-dispersión (Roach y Wulff 1987; Galloway 2001a, 2005, Donohue 2009, 2013).

El efecto del ambiente materno sobre la dormición y la capacidad de germinar de las semillas ha sido estudiado en varias especies y se ha determinado la influencia significativa de una amplia gama de factores ambientales (Roach y Wulff 1987; Fenner 1991; Gutterman 2000; Macgregor et al. 2015). Por ejemplo, se ha encontrado en varias especies una relación negativa entre la temperatura durante la etapa de desarrollo y maduración de las semillas y el nivel de dormición primaria que estas presentan al momento de su dispersión (Steadman et al. 2004; Kendall et al. 2011; Kendall y Penfield 2012; Penfield y Springthorpe 2012; Chen et al. 2014; Macgregor et al. 2015); así como una relación positiva entre esta última y la longitud del día (Kigel et al. 1977; Munir et al. 2001; Imaizumi et al. 2017). En algunas especies, atrasos en la fecha de siembra determinan una disminución del nivel de dormición de las semillas (Ceccato et al. 2015). Además, otros factores han evidenciado una marcada influencia sobre el nivel de dormición primaria: el ambiente lumínico, la disponibilidad de agua y nutrientes, así como la herbivoría y las interacciones competitivas. En relación al ambiente lumínico, en general, se ha encontrado una relación positiva entre el nivel de dormición de las semillas y la cantidad de radiación (Sánchez et al. 1981). En cuanto a la calidad de la luz, la relación R:RL a la que son expuestas las semillas durante su desarrollo y maduración ha sido señalada como un factor clave para la determinación de los requerimientos de luz para germinar en semillas maduras. Esto fue investigado inicialmente por McCullough y Shropshire (1970) quienes encontraron que la capacidad de germinar en oscuridad en *Arabidopsis thaliana* era mayor en semillas obtenidas de ambientes ricos en luz R. Estudios posteriores revelaron que estos efectos eran el resultado de variaciones de la R:RL incidente sobre la semilla durante su formación en la planta madre (Cresswell y Grime 1981; Schmitt y Wulff 1993; Orozco-Segovia et al. 2000; Vayda et al. 2018). En función de esto, se ha considerado extensamente que el

efecto de la presencia de un canopeo consistiría en aumentar el nivel de dormición de las semillas debido a la reducción que genera en la R:RL del ambiente lumínico.

Trabajos relativamente recientes muestran que el efecto del ambiente materno no tendría sólo el potencial de influir sobre la dinámica de la dormición primaria de las semillas, sino también sobre la inducción en dormición secundaria (Auge et al. 2015; Coughlan et al. 2017; Edwards et al. 2016). En líneas generales, estos trabajos señalan que las condiciones del ambiente que promueven la inducción en dormición primaria durante la maduración de las semillas determinarían una mayor sensibilidad de las semillas a aquellos factores que determinan la inducción en dormición secundaria (Fig. 1.2). Sin embargo, estos efectos han sido estudiados en poca profundidad (Auge et al. 2015; Coughlan et al. 2017) y en pocas especies (la mayoría de estos estudios se realizaron utilizando la especie *A. thaliana*).

Aunque diversos factores ambientales han sido estudiados en relación a su efecto materno, estos han sido mayoritariamente analizados de forma individual y bajo condiciones controladas. Por ello, es posible afirmar que se desconoce la importancia relativa que cada uno de ellos podría tener sobre el nivel de dormición en una especie determinada (Donohue 2013); así como el impacto que podrían determinar sobre la emergencia, la dinámica poblacional y la capacidad reproductiva de las plantas (Fenner 1991; Donohue et al. 2005; Donohue 2009; Kendall y Penfield 2012). Aún no existen evidencias claras en relación a si el ambiente materno incide sobre la respuesta de las semillas a la temperatura durante la salida de la dormición, si afecta las respuestas de las semillas a la luz y las temperaturas alternadas; o si altera la dinámica de inducción en dormición secundaria. Por otro lado, aunque se han desarrollado modelos con la intención de predecir la emergencia simulando los cambios en el nivel de dormición de los bancos de semillas de distintas especies maleza, ninguno de ellos ha considerado el

efecto que podría tener el ambiente materno sobre dicha dinámica. Avanzar sobre estos aspectos resulta indispensable si se pretende profundizar el entendimiento sobre el comportamiento de las malezas, determinar si este efecto podría aumentar la capacidad predictiva de los modelos existentes y desarrollar prácticas de manejo y control de malezas más eficaces y sustentables. Finalmente, ante un contexto de cambio climático, la elaboración de estos modelos permitiría, a su vez, simular posibles respuestas de los bancos de semillas a dicho fenómeno y evaluar sus efectos sobre la dinámica de las poblaciones de malezas bajo diferentes escenarios (Kendall y Penfield 2012).

1.1.5. Casos de análisis: *Polygonum aviculare* y *Amaranthus hybridus*

Distintos aspectos fundamentan la selección de estas especies como objeto de estudio de la presente tesis. En principio, *P. aviculare* (Poligonácea) y *A. hybridus* (ex *quitensis*, Amarantácea) son malezas de relevancia en los sistemas agrícolas actuales, ya que generan importantes pérdidas económicas en distintos cultivos de invierno (e.g. en trigo y otros cereales, en el caso de *P. aviculare*) y de verano (e.g. en soja y maíz, en el caso de *A. hybridus*) (Vitta et al. 2000; Costea y Tardif 2005; Faccini y Vitta 2005; Cristaudo et al. 2016). Estas diferencias en relación a los cultivos a los cuales se asocian ambas malezas, se corresponden con que estas especies presentan ventanas de emergencia temporalmente diferentes (Costea y Tardif 2003; Assad et al. 2017): la emergencia de *P. aviculare* es más temprana (fines de invierno-inicios de primavera) que la de *A. hybridus* (fines de primavera-verano). Por tanto, el uso de estas especies permitiría examinar el efecto del ambiente materno sobre malezas que presentan diferentes estrategias para establecerse en los sistemas de cultivo. A su vez, estas especies cuentan con aspectos en común. Ambas se propagan por estructuras reproductivas (Fig. 1.3), las cuales se desarrollan y maduran en una ventana temporal relativamente extensa. Esto

implica que las semillas pueden explorar una importante variabilidad ambiental durante su formación en la planta madre, entre y dentro de una misma cohorte de plantas.

En ambas especies, las semillas presentan un nivel de dormición primaria relativamente alto al momento de su dispersión de la planta madre (Batlla et al. 2003; Faccini y Vitta 2005). En semillas recientemente cosechadas de *P. aviculare*, esto evidencia por el hecho de que la germinación no se produce bajo un rango muy amplio de temperaturas (Courtney 1968; Kruk y Benech-Arnold 1998; Batlla y Benech-Arnold 2003). Por su parte, la presencia de dormición primaria en semillas recién cosechadas de *A. hybridus* se evidencia por el hecho de que la germinación sólo ocurre en un rango muy estrecho de temperaturas relativamente altas (30-40 °C) (Kruk 1992; Faccini y Vitta 2005). Una vez dispersadas, la salida de la dormición en ambos casos se produce por la exposición de semillas embebidas a las bajas temperaturas de otoño e invierno (estratificación). Este proceso ocurre, principalmente, a expensas de reducciones graduales de la temperatura mínima a la cual las semillas son capaces de germinar (T_1) y determina un nivel mínimo de dormición a fines de invierno, inicios de primavera en *P. aviculare*, y fines de primavera en *A. hybridus* (Courtney 1968; Froud-Williams et al. 1984; Kruk 1992; Batlla y Benech-Arnold 2003).

En *P. aviculare*, la dinámica de salida de la dormición primaria ha sido cuantificada por Batlla y Benech-Arnold (2003), quienes desarrollaron un modelo que presenta algunas particularidades (dado que la salida de la dormición ocurre a una tasa que depende inversamente de la temperatura), pero que básicamente permite predecir los cambios en el nivel de dormición (i.e. en la $T_{1(50)}$) mediante la acumulación de unidades de tiempo térmico (°Cd) por debajo de una temperatura umbral para la salida de la dormición. La ampliación del rango térmico, sumado a una baja T_b para la germinación (0 °C, Kruk y Benech-Arnold 1998), parecería explicar la emergencia de *P. aviculare*

durante el cultivo de trigo y otros cereales de invierno. En *A. hybridus*, Kruk (1992) cuantificó los cambios en la temperatura límite inferior. Estas cuantificaciones sugieren que una $T_{l(50)}$ y una T_b (de 7-12,5 °C) para la germinación mayores a las registradas para *P. aviculare* parecerían determinar que la emergencia de *A. hybridus* ocurra más tarde (Kruk 1992; Faccini y Vitta 2005). Cabe señalar que, en *A. hybridus*, además de la dinámica descrita, la salida de la dormición también tiene lugar en semillas almacenadas en seco a altas temperaturas, a diferencia de *P. aviculare* en las que estas condiciones producen cambios a tasas ínfimas (Kruk et al. 2006).

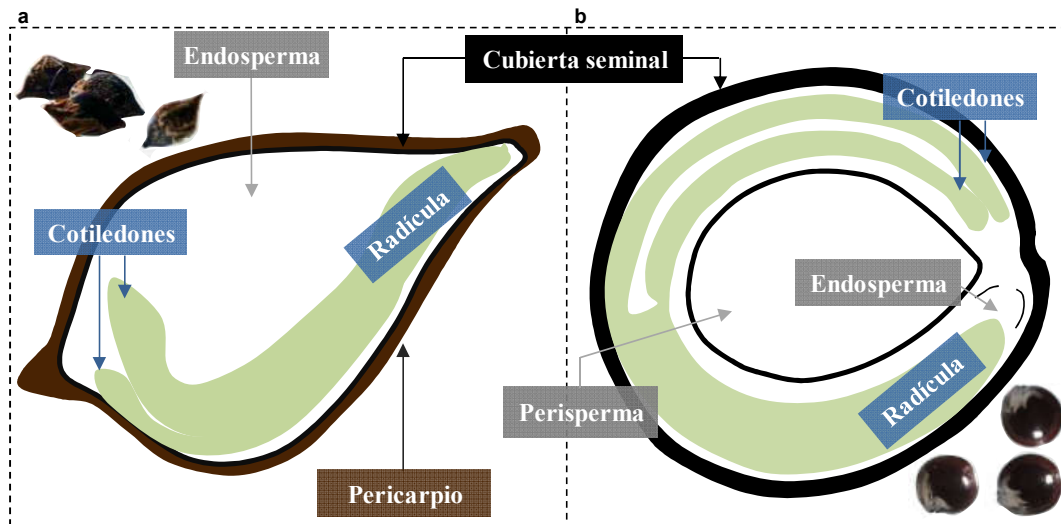


Figura 1. 3. (a) Representación esquemática de corte longitudinal de un fruto (aquenio) de *P. aviculare* y sus principales componentes (Neubauer 1971; Wolf y McNeill 1986). En general, se hará referencia a la semilla como agente de dispersión y sólo se hablará de fruto cuando se analicen los componentes del fruto o la semilla que imponen la dormición. El rol de los distintos componentes en la determinación del nivel de dormición ha sido poco establecido en *P. aviculare*. (b) Representación esquemática de corte transversal de una semilla de *A. hybridus* y sus principales componentes. El fruto es un pixidio uniseminado dehiscente que libera tempranamente la semilla (Weaver y McWilliams 1980; Irving et al. 1981; Costea et al. 2001). La bibliografía indica que las semillas de *A. hybridus* presentan dormición impuesta por la cubierta seminal o testa (Faccini y Barat 1989).

Por otro lado, ambas especies presentan requerimientos de luz y temperaturas alternadas para terminar la dormición. En semillas de *P. aviculare* se ha encontrado que la sensibilidad a la luz aumenta conforme disminuye el nivel de dormición, lo que se traduce en la adquisición sucesiva de respuestas del tipo LFR, VLFR (Fig. 1.2) y la

pérdida del requisito de luz para la germinación por una fracción de la población de semillas (Courtney 1968; Baskin y Baskin 1988; Batlla y Benech-Arnold 2005). De manera similar, en estas semillas, la respuesta a la alternancia térmica varía ante cambios en el nivel de dormición (Batlla et al. 2003). En *A. hybridus*, la bibliografía señala respuestas del tipo LFR, variaciones en la capacidad de germinar en oscuridad y en las respuestas a las temperaturas alternadas conforme procede del tiempo de post-maduración (Faccini y Vitta 2005; Cristaudo et al. 2007). Por ello, estas especies permitirían analizar el efecto del ambiente materno sobre la respuesta de las semillas a los factores terminadores de la dormición.

En cuanto a la dinámica de entrada en dormición secundaria, el efecto de las altas temperaturas del suelo durante el verano ha sido estudiado en semillas de *P. aviculare* (Batlla et al. 2009; Malavert et al. 2017). Malavert et al. (2017) propusieron que la inducción determina incrementos paulatinos de la temperatura límite inferior del rango térmico permisivo para la germinación a una tasa que depende positivamente de la temperatura. Una elevada sensibilidad de las semillas a las altas temperaturas determina que la inducción en dormición secundaria acorte la ventana de emergencia de *P. aviculare*, lo que explicaría, en parte, la menor importancia relativa de esta especie en cultivos con ciclos más tardíos. En *A. hybridus*, la presencia de dormición secundaria no ha sido documentada. Faccini y Vitta (2005) examinaron los cambios en la germinación lograda (en laboratorio) en función del tiempo de entierro de las semillas en el campo: observaron un aumento de la germinación durante el invierno, un máximo en primavera y una disminución en el verano. Los autores sugirieron que esta disminución de la germinación estaría determinada por la inducción en dormición secundaria. Sin embargo, la ocurrencia de este proceso no ha sido verificada. No obstante, el hecho de que la ventana de emergencia ocurra en forma posterior a la de *P. aviculare* sugiere, no

sólo la posibilidad de cambios en la magnitud de la respuesta de las semillas al afecto modulador de la temperatura durante la salida de la dormición, sino también cambios en la dinámica de inducción en dormición secundaria. Determinar si variaciones en las condiciones ambientales experimentadas por las semillas durante su formación en la planta madre pueden afectar la dinámica de entrada en dormición secundaria permitiría dimensionar el rol ecológico de este efecto.

En cuanto al efecto del ambiente materno, hay trabajos que sugieren o muestran variaciones en el nivel de dormición de las semillas de ambas especies en función del efecto de distintos factores. Por ejemplo, se ha documentado en *P. aviculare* la existencia de dos tipos diferentes de semillas en función de la edad de la planta madre (Wolf y McNeill 1986; Yurtseva et al. 1999; Yurtseva 2001; Costea y Tardif 2003). Así, las semillas que se desarrollan a partir de las primeras flores (primavera), parecerían presentar un mayor nivel de dormición que aquellas que se desarrollan más tarde (otoño), además de presentar una serie de variaciones morfológicas y anatómicas, al ser las primeras más pequeñas, presentar un pericarpio más oscuro, un embrión más corto y un endosperma menos desarrollado. En distintas Amarantáceas se ha verificado que variaciones en el fotoperíodo materno y la fecha de siembra de la planta madre determinan cambios en el nivel de dormición de las semillas obtenidas, así como en la capacidad de estas de germinar en oscuridad (Barton 1962; Frost 1971; Kigel et al. 1977; Chadoeuf-Hannel y Barralis 1982). Aunque la información es escasa, existen indicios acerca de que el comportamiento germinativo de las semillas de *P. aviculare* y *A. hybridus* podría ser influenciado por las condiciones ambientales que estas experimentan durante su formación en la planta madre.

En función de las características mencionadas anteriormente, el uso de estas especies permitiría estudiar el efecto del ambiente materno en malezas con ventanas de

emergencia temporalmente diferentes, cuyas semillas presentan cambios marcados en su nivel de dormición y que son sensibles a factores ambientales que terminan la dormición. El hecho de que las semillas de *A. hybridus* muestran cambios en su nivel de dormición bajo condiciones de post-maduración seca permite, a su vez, abordar el efecto del ambiente materno sobre la dormición en semillas embebidas y secas, ampliando el rango de condiciones analizado. Por último, cabe señalar que en el marco de este trabajo se utilizará un ecotipo de *P. aviculare* (origen: Balcarce, Provincia de Buenos Aires, Argentina) que ha sido caracterizado en detalle y para el cual se han desarrollado modelos que permiten simular los cambios en el nivel de dormición (primaria y secundaria) en función de la temperatura del suelo (Batlla et al. 2003, 2009; Batlla y Benech-Arnold 2005; Malavert et al. 2017). El estudio exhaustivo realizado con semillas de este ecotipo permite, a su vez, disponer de un marco teórico y conceptual (Batlla y Benech-Arnold 2015) que facilita el abordaje del efecto del ambiente materno sobre la dormición de las semillas de esta especie. Esto, además, genera las bases para el estudio del efecto del ambiente materno en semillas de otras especies, como *A. hybridus*, cuyo comportamiento germinativo ha sido estudiado en menor profundidad, a pesar de su relevancia como maleza en los sistemas productivos actuales.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Estudiar y cuantificar el efecto del ambiente materno sobre los cambios en el nivel de dormición y los patrones temporales de emergencia en semillas de dos especies maleza de ciclo primavero-estival, *Polygonum aviculare* y *Amaranthus hybridus*.

1.2.2. Objetivos particulares

1. Evaluar el efecto de variaciones en (A) la fecha de siembra, (B) el fotoperíodo, (C) la temperatura, (D) la radiación y (E) la calidad de la luz durante las etapas de desarrollo

- y maduración de las semillas de *P. aviculare* sobre (i) el nivel de dormición primaria, (ii) la salida de la dormición primaria, (iii) la inducción en dormición secundaria y (iv) las respuestas a la luz y a las temperaturas alternadas.
2. Evaluar el efecto de variaciones en (A) y (B) durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas de *A. hybridus* sobre (i), (ii) y (iv).
 3. Evaluar el efecto de la presencia de un canopeo durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas sobre (i), (ii) y (iv) en semillas de *P. aviculare*.
 4. Establecer si los efectos observados en 1, 2 y 3 influyen sobre los patrones temporales de la emergencia a campo.
 5. Cuantificar los efectos de (A), (B) y (C) sobre (i), (ii) y (iii) y, en base a los resultados obtenidos, desarrollar modelos predictivos de la emergencia. Evaluar su funcionamiento con datos de emergencia a campo.
 6. Dilucidar, de forma preliminar, el rol de los componentes embrionarios y de cubiertas asociados a los cambios en el nivel de dormición por efecto de la fecha de siembra (A) y el fotoperíodo (B) en *A. hybridus*, y la presencia de un canopeo en *P. aviculare*.

1.3. Hipótesis propuestas y predicciones asociadas

1. El nivel de dormición primaria que presentan las semillas de *P. aviculare* y *A. hybridus* a la dispersión varía en función de las condiciones ambientales que estas experimentan durante su desarrollo y maduración en la planta madre.

Predicciones asociadas a la Hipótesis 1:

- 1.1. Atrasos en la fecha de siembra (A), un menor fotoperíodo (B), una mayor temperatura (C), una mayor radiación (D) y una mayor R:RL (E) durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas en la planta madre determinan una disminución del nivel de dormición primaria de las semillas.

2. Semillas expuestas durante su desarrollo y maduración al micro-ambiente generado por la presencia de un canopeo presentan un aumento en su nivel de dormición como consecuencia de estar expuestas a una menor R:RL producto del filtrado de la luz solar que realizan las hojas del canopeo.
3. La dinámica de inducción en dormición secundaria en semillas de *P. aviculare* varía en función de las condiciones ambientales que estas experimentan durante su desarrollo y maduración en la planta madre.
4. El efecto del ambiente materno se encuentra en parte determinado por cambios en la dormición impuesta por las cubiertas de las semillas y/o frutos.
5. Los cambios observados en el nivel de dormición por efecto de la fecha de siembra en semillas de ambas especies pueden ser descriptos a partir de variaciones en el límite inferior del rango térmico permisivo para la germinación ($T_{l(50)}$).
6. El efecto del ambiente materno sobre la dormición determina variaciones en los patrones temporales de emergencia en el campo.

1.4. Estructura de la tesis

Para poner a prueba las hipótesis propuestas se realizaron distintos experimentos cuyos resultados se presentan en los Capítulos 2, 3, 4 y 5. En los Capítulos 2 y 3 se describen y analizan cuantitativamente los resultados de tres años de ensayos en los que se estudió el efecto de los cambios en las condiciones ambientales exploradas por las semillas durante su desarrollo y maduración ante cambios en la fecha de siembra de las plantas madre. A su vez, se describe el efecto particular del fotoperíodo, uno de los factores que varía ante modificaciones en la fecha de siembra. En el Capítulo 2 (Hipótesis 1, 3, 5 y 6) se presentan los resultados sobre semillas de *P. aviculare*, donde a su vez se estudia la variabilidad de la respuesta observada en distintos ecotipos de la especie. En el Capítulo 3 (Hipótesis 1, 4, 5 y 6) se presentan los resultados sobre

semillas *A. hybridus*, donde a su vez se indaga sobre los posibles mecanismos que estarían mediando los efectos del ambiente materno sobre la dormición de las semillas. En el Capítulo 4 (Hipótesis 1, 3 y 6) se analiza el efecto de la temperatura materna sobre la dormición en semillas de *P. aviculare*, otro factor que varía marcadamente ante cambios en la fecha de siembra. Por su parte, en el Capítulo 5 (Hipótesis 1, 2, 4 y 6) se analiza el efecto del micro-ambiente lumínico impuesto por la presencia del canopeo de un cultivo de trigo sobre la dormición en semillas de *P. aviculare*. Este capítulo aborda, a su vez, el rol particular y conjunto de los factores que son mayormente alterados por la presencia de un canopeo: la RFA y la R:RL. En el Capítulo 5 se analizan además algunos de los mecanismos asociados a la imposición de dormición como resultado de los factores estudiados. Los materiales y métodos generales empleados en los experimentos se describen en detalle en el Capítulo 2, mientras que los materiales y métodos específicos se describen en cada capítulo particular. En la sección Anexo se encuentran figuras, cuadros y notas suplementarias a los capítulos de resultados 2, 3, 4 y 5. Finalmente, en el Capítulo 6 se presenta la interrelación y síntesis de los resultados alcanzados, la discusión general del trabajo que incluye el contraste de hipótesis, la contribución al avance del conocimiento, aplicaciones de los resultados obtenidos, el planteo de nuevos interrogantes y la propuesta de futuras líneas de investigación.

CAPÍTULO 2

La regulación del ambiente materno sobre la dormición en semillas de *Polygonum aviculare* es fundamental para maximizar la capacidad reproductiva de las plantas

Resumen

La emergencia en el momento y lugar apropiados resulta fundamental para maximizar la capacidad adaptativa de las plantas. Para ello, las plantas presentan distintos mecanismos que les permiten ajustar su germinación -y subsecuente emergencia- en función de factores ambientales que resultan indicadores del momento y del espacio. En ambientes templados con estaciones marcadas, el mecanismo más frecuente es la dormición. Debido a que se ha identificado una marcada influencia del ambiente materno sobre la dormición en semillas de numerosas especies, se ha sugerido que el ambiente materno tiene el potencial de afectar los patrones temporales de emergencia y, consecuentemente, el éxito reproductivo de las plantas. Sin embargo, el impacto que este efecto podría tener sobre la emergencia a campo y su relación con la capacidad reproductiva de los individuos son aspectos no dilucidados. En el presente capítulo se analizó el efecto de la fecha de siembra y el fotoperíodo explorado por las semillas de *Polygonum aviculare* durante su desarrollo y maduración en la planta madre sobre: la salida de la dormición primaria, las respuestas a luz y a las temperaturas alternadas, la inducción en dormición secundaria y los patrones de emergencia a campo. El efecto del ambiente materno fue cuantificado y modelado, lo cual permitió simular e interpretar los resultados obtenidos. Los resultados mostraron que la regulación que ejerce el ambiente materno sobre la dormición de las semillas de *P. aviculare* es instrumental para maximizar la capacidad reproductiva de las plantas. Esta regulación operó modificando el nivel de dormición de semillas maduras y dispersadas en diferentes momentos (debido a cambios en la fecha de siembra de las plantas) de modo

de sincronizar la mayor parte de la emergencia de la descendencia con aquel período estacional que garantiza la mayor producción de semillas de la nueva generación. Los resultados muestran, a su vez, que el fotoperíodo, factor que representa una clara señal del momento del año, participa en esta regulación.

2.1. Introducción

El momento en que las semillas germinan determina el posicionamiento de los distintos eventos fenológicos de la vida de una planta en relación al ambiente, lo cual apareja consecuencias sobre la capacidad reproductiva de las plantas y su posible adaptación a un ambiente determinado (Fenner y Thompson 2005; Chiang et al. 2013; Burghardt et al. 2016). Por ello, en las especies anuales de climas estacionales (donde el período favorable para el crecimiento y la reproducción es limitado), la germinación es un evento crucial dentro del ciclo de vida de la planta. En estos ambientes, germinar en el momento o lugar equivocados significaría, sin duda, la muerte de la planta o, lo que es peor, a un nivel jerárquico superior, el fracaso de la persistencia de las especies en un determinado escenario ecológico (Donohue et al. 2010).

Distintos mecanismos han evolucionado para asegurar a las plantas germinar en el momento y lugar adecuados. El más común de estos mecanismos es la dormición, un rasgo intrínseco de las semillas que les permite integrar a lo largo del tiempo distintas señales del ambiente y ajustar las condiciones requeridas para la germinación de manera de coordinar su comportamiento germinativo con el ambiente (Finch-Savage y Leubner-Metzger 2006; Willis et al. 2014; Arana et al. 2016). En general, las semillas presentan un alto nivel de dormición primaria al momento de su dispersión, el cual disminuye gradualmente a medida que pasa el tiempo. La emergencia normalmente tiene lugar cuando las semillas presentan un bajo o mínimo nivel de dormición, lo que maximiza la probabilidad de una superposición entre las condiciones ambientales imperantes y el

rango ambiental dentro del cual la germinación puede proceder. De lo contrario, las semillas pueden entrar en dormición secundaria siempre que se cumplan ciertas condiciones ambientales (Benech-Arnold et al. 2000).

El nivel de dormición primaria que presentan las semillas a la dispersión y, eventualmente, su salida y re-inducción post-dispersión, están determinados por el genotipo y son modulados por las condiciones prevalecientes durante el desarrollo y la maduración de esas semillas en la planta madre (Roach y Wulff 1987; He et al. 2014; Penfield y MacGregor 2017). Sin embargo, se desconoce hasta qué punto el efecto del ambiente materno contribuye a la respuesta de las semillas a las señales ambientales post-dispersión, alterando el ajuste de las condiciones requeridas para la germinación (Donohue 2009; Huang et al. 2015). A pesar de los avances logrados, son escasos los estudios que analizan el efecto del ambiente materno sobre la dormición primaria y secundaria de las semillas, y prácticamente no se registran intentos de cuantificarlo y modelarlo. Además, aunque distintas investigaciones sugieren que el efecto del ambiente materno incidiría sobre los patrones de emergencia e impactaría sobre la dinámica poblacional de las plantas (Galloway 2001*a,b*; Donohue 2005; Walck et al. 2011; Cendán et al. 2013; Burghardt et al. 2016), esto no ha sido probado bajo condiciones de campo (Fenner 1991; Donohue 2009; Kendall y Penfield 2012).

En el presente capítulo se estudió el efecto del ambiente materno sobre el nivel de dormición en semillas de *P. aviculare* mediante la combinación de experimentos de laboratorio y de campo, y el uso de modelos umbrales de base poblacional. Para ello, se tuvo por objetivos analizar el efecto de la fecha de siembra de la planta madre y del fotoperíodo materno sobre la salida de la dormición primaria y la inducción en dormición secundaria a través de (i) cambios en el rango térmico permisivo para la germinación y (ii) las variaciones en la respuesta de las semillas a la alternancia térmica

y la luz. A su vez, se determinó el impacto del ambiente materno sobre los patrones de emergencia a campo.

2.2. Materiales y métodos

Para los ensayo se utilizaron semillas de *P. aviculare* recolectadas durante su período de dispersión natural (marzo) en campos productivos ubicados en Buenos Aires (Balcarce, 37° 45' S, 58° 18' O y Bellocq, 35° 55' S, 61° 32' O), Río Negro (Bariloche, 41° 07' S, 71° 15' O), Argentina y Valparaíso (Valparaíso, 33° 33'S, 71° 36' O), Chile. Las semillas recolectadas se acondicionaron utilizando un soplador de semillas (Burrows 1836-3, Evanston, IL, USA) para eliminar posibles semillas vacías y se almacenaron en frascos de vidrio negro a ~20 °C hasta el comienzo de los experimentos de ambiente materno. Estos experimentos se realizaron en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, Argentina (34° 25' S, 58° 25' O), utilizando semillas recolectadas en Balcarce, salvo se mencione específicamente otro origen.

2.2.1. Experimentos de ambiente materno

Se realizaron diferentes experimentos con el fin de que las plantas exploraran una variedad de condiciones ambientales durante las etapas de desarrollo y maduración de semillas (estrictamente, aquenios). Para obtener las plantas, las semillas fueron estratificadas a 4,8 °C durante 50 d y luego incubadas a 10/24 °C (12/12 h) durante 15 d. Las semillas pre-germinadas se sembraron en bandejas de 1,5 dm³ que contenían una mezcla de tierra, arena y perlita (3: 2: 1), se mantuvieron en un invernáculo y se regaron diariamente. Luego de 15 d, las plántulas fueron trasplantadas a macetas de plástico de 15 dm³ (que contenían la misma mezcla previamente descripta) y se transfirieron al campo. Sólo fueron utilizadas aquellas plantas que alcanzaron la floración (i.e. la primera flor aparecida en la axila de una rama) dentro de la misma semana.

2.2.1.1. Exposición de las plantas a variaciones en las condiciones ambientales a través de cambios en la fechas de siembra

Los experimentos se realizaron durante tres estaciones de crecimiento consecutivas (Fig. 2.1). En 2015/16, las siembras se realizaron a fines de otoño (15 de junio, 26 plantas), fines de invierno (12 de septiembre, 8 plantas), fines de primavera (20 de noviembre, 8 plantas) y principios de verano (enero 21, 26 plantas). En 2016/17, las siembras se realizaron en dos fechas contrastantes: mediados de invierno (15 de julio, 26 plantas) y principios de verano (21 de diciembre, 20 plantas). En 2017/18, se realizaron siembras a fines de otoño (10 de junio, 28 plantas), mediados de invierno (12 de agosto, 18 plantas), principios de primavera (26 de septiembre, 18 plantas) y mediados de verano (1 de febrero, 22 plantas). En este último ensayo se sembraron con fines comparativos, además del biotipo de Balcarce, los demás biotipos recolectados en los diferentes sitios geográficos mencionados anteriormente.

2.2.1.2. Exposición de las plantas a variaciones en el fotoperíodo durante la etapa reproductiva

Plantas sembradas a fines de otoño de 2015 (15 de junio) y a mediados del invierno de 2016 (15 de julio) se expusieron desde floración a distintas condiciones fotoperiódicas: fotoperíodo natural (i.e. corto) vs extendido artificialmente 2.0 ó 4.0 h (" +2 h" y +4 h"). El fotoperíodo se extendió utilizando estructuras de iluminación (cuatro repeticiones por extensión), las cuales contaban con un tubo fluorescente y dos lámparas incandescentes (5 W), una a cada lado del tubo (Fig. 2.1). Esto proporcionó una densidad de flujo de fotones (400-700 nm) de $4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (medida en la parte superior de cada planta, utilizando un sensor cuántico LI-COR Inc., USA) y una R:RL de $1,1 \pm 0,1$ (sensor SKR-100, Skye Instruments Ltd., Gales) que es similar a la luz del

día (Holmes y Smith 1977). Las luces se encendieron automáticamente antes del atardecer y se apagaron según la extensión de luz artificial de cada tratamiento.



Figura 2. 1. Vista de experimentos que consistieron en generar plantas de *P. aviculare* en distintas fechas de siembra y exponerlas a diferentes fotoperíodos desde floración.

Las macetas se distribuyeron aleatoriamente sobre un área cubierta por piedras (Fig. 2.1), lo que impidió el crecimiento de malezas, y las plantas se regaron manualmente. Se registró el momento de floración de cada planta individual. Las cosechas de semillas se realizaron cada 20-25 d durante el período de dispersión utilizando bolsas de nylon de malla fina que envolvieron las plantas para retener las semillas dispersas naturalmente en el interior. Las réplicas para cada tratamiento se obtuvieron agrupando semillas de diferentes plantas. Además, las semillas recolectadas en 2015/16 se combinaron para formar dos momentos de cosecha durante el período de dispersión natural de las semillas (C1 para semillas obtenidas de cosechas más tempranas y C2 para semillas provenientes de cosechas más tardías). Las semillas (contenido de humedad $10 \pm 0,1\%$, base peso fresco) fueron aventadas y almacenadas en bolsas de papel a $\sim 20^\circ\text{C}$ para iniciar inmediatamente con los experimentos de post-maduración. Al final de las cosechas, se estimó la producción de semillas para cada planta. Los datos ambientales se obtuvieron de una estación meteorológica a 20 m del sitio experimental.

2.2.2. Experimentos de post-maduración

2.2.2.1. Dormición primaria

El Experimento 1 (E1) se destinó a probar el efecto del ambiente materno sobre el nivel de dormición de las semillas a la dispersión (i.e. a cosecha) y su disminución

durante el almacenaje bajo condiciones de estratificación. Para ello, semillas obtenidas de las diferentes fechas de siembra (2015/16, 2016/17 y 2017/18) y distintos momentos de cosecha (C1 y C2, 2015/16) fueron estratificadas a $4,8 \pm 0,07$ °C durante 0 (i.e. a cosecha), 10, 25, 50 y 75 d, cuando la germinación se evaluó a 15 y 10/24 °C (12 h/12 h). Además, se utilizaron semillas obtenidas de las siembras de fines de otoño (y expuestas a fotoperíodo natural y extendido +4 h) e inicios de verano 2015/16 para analizar la salida de la dormición a través de los cambios en el rango térmico permisivo para la germinación. Para ello, las semillas fueron estratificadas a $1,6 \pm 0,17$, $4,8 \pm 0,07$ y $9,8 \pm 0,06$ °C por 0, 10, 25, 50 y 75 d, cuando la germinación se evaluó a 10, 15, 20, 25 y 10/24 °C; temperaturas que habitualmente exploran las semillas de *P. aviculare* durante la ventana de emergencia en el campo (Costea y Tardif 2003).

A su vez, las respuestas de las semillas a la alternancia térmica y a la luz fueron analizadas. Para ello se utilizaron semillas obtenidas de las plantas sembradas a fines de otoño (fotoperíodo natural corto y extendido +4 h) e inicios de verano 2015/16, y semillas obtenidas de las siembras de mediados de invierno de 2016 (fotoperíodo natural, +2 h y +4 h) e inicios de verano 2016/17. Las semillas fueron estratificadas a 4,8 °C y la germinación fue evaluada a 15 y 10/24 °C, luego de la exposición a: (i) un pulso de luz R de 20 min de una intensidad de $28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, (ii) un pulso de luz RL de 20 min de una intensidad de $32 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y (iii) oscuridad constante (Batlla y Benech-Arnold 2005).

2.2.2.2. Dormición secundaria

El Experimento 2 (E2) se realizó para estudiar el efecto del ambiente materno sobre la inducción en dormición secundaria a través de cambios en el rango térmico permisivo para la germinación y la respuesta de las semillas a las temperaturas alternadas. Las semillas obtenidas de plantas sembradas a fines de otoño e inicios de verano

(2015/2016) fueron estratificadas a 4,8 °C para disminuir el nivel de dormición. A los 65 d de estratificación, las semillas fueron transferidas a cámaras a $19,8 \pm 0.07$ y $23,2 \pm 0.09$ °C para promover la inducción en dormición secundaria (Batlla et al. 2009) y almacenadas durante 0, 1, 3, 6, 9, 15 y 20 d, momentos en los que se evaluó la germinación a 15, 20, 25 y 10/24 °C.

2.2.2.3. Patrones temporales de emergencia a campo

En el Experimento 3 (E3) se analizó el efecto del ambiente materno sobre los patrones temporales de emergencia a campo. Se utilizaron semillas obtenidas de aquellas plantas sembradas a fines de otoño (fotoperíodo natural y +4 h) e inicios de verano (2015/16), las cuales fueron enterradas en el suelo inmediatamente luego de sus respectivas cosechas. Las semillas obtenidas de plantas sembradas a fines de otoño, cultivadas bajo fotoperíodo natural, se enterraron, adicionalmente, junto con aquellas semillas provenientes de plantas sembradas a inicios del verano. El 10 de abril, 16 de junio, 22 de julio, 23 de agosto, 27 de septiembre, 1 de noviembre y 25 de enero se realizaron remociones del suelo con el fin de extraer muestras de semillas y realizar pruebas de emergencia a campo.

2.2.3. Condiciones de post-maduración

Para la estratificación (E1) y el almacenaje a altas temperaturas y humedad (E2), grupos de semillas fueron dispuestos dentro de pequeñas bolsas de malla de nylon de 5x5 cm, las cuales se enterraron a ~5 cm de profundidad en macetas que contenían un sustrato de suelo húmedo (tierra, arena y perlita, 3: 2:1) previamente secado a 70 °C durante 48 h. La cantidad de semillas dispuestas en cada sobre dependió del experimento realizado. Para mantener la humedad del sustrato en E1 y E2, las macetas fueron colocadas sobre bandejas de plástico que contuvieron una capa constante de agua destilada en la base y las macetas se regaron periódicamente. La temperatura y la

humedad del sustrato se registraron cada hora (DAT-10, Dataloggers de temperatura y humedad, China).

En E3, bolsas de malla de nylon 8x8 cm que contenían 500 semillas fueron enterradas en el suelo al azar a 5 cm de profundidad. Para identificar la ubicación de cada bolsa, se unió una tira de alambre en un extremo de cada bolsa que permitió, a su vez, jalarlas y extraerlas cuando fuera necesario. La temperatura del suelo y el contenido de agua se registraron cada hora a la profundidad previamente indicada (Temperature-Logger METEO4, SCH-10, Cavadevices.com, Argentina). Las parcelas experimentales fueron manualmente desmalezadas. Antes del entierro de cada grupo de semillas, la germinación se evaluó a 15 y 10/24 °C para registrar el nivel inicial de dormición de las semillas (germinación <2%).

2.2.4. Pruebas de germinación y emergencia

Para las pruebas de germinación (E1 y E2), grupos de bolsas de malla de nylon fueron extraídas de las macetas (4 por tratamiento) en una habitación oscura bajo luz fluorescente verde de baja intensidad, y remojadas con agua destilada para remover partículas de sustrato adheridas a las semillas. Se colocaron 45-55 semillas en placas de Petri de 9 cm de diámetro sobre dos discos de papel de filtro Whatman No. 3 humedecidos con 5 ml de agua destilada. Luego, las semillas fueron expuestas a un pulso de luz R de 15 min para cumplir con los requerimientos de luz para terminar la dormición e iniciar la germinación (Batlla y Benech-Arnold 2003), o 20 min de R, RL u oscuridad constante cuando se evaluó la respuesta de las semillas a la luz. Durante la exposición de las semillas a la luz, la temperatura dentro de las cabinas se mantuvo por debajo de los 20 °C. Aquellas placas destinadas al tratamiento de oscuridad fueron primero envueltas con el nylon negro y, luego, expuestas durante 20 min a luz R. Aquellas semillas no estratificadas (i.e. a cosecha) fueron primero incubadas en agua

destilada durante 24 h para permitir su imbibición, a la temperatura de incubación indicada para cada ensayo y luego fueron expuestas al pulso de luz. Después del pulso de luz, las placas se envolvieron con nylon negro y se incubaron durante 15 d en oscuridad a la temperatura e indicada para cada ensayo (10, 15, 20, 25 y/o 10/24 °C).

La germinación se registró diariamente bajo luz blanca fluorescente, excepto cuando se analizó la respuesta de las semillas a la luz, en cuyo caso el porcentaje de germinación se registró luego de los 15 d de incubación. El criterio para determinar germinación fue la visualización de la protrusión de la radícula. Al final de cada prueba, se excluyeron las semillas muertas (<5%) mediante el aplastamiento y la inspección visual de las semillas. A los 75 d de estratificación a 4,8 °C, la viabilidad de las semillas se estimó incubando semillas en una solución de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio al 1% (p/v) durante 24 h a 25 °C ($94 \pm 1,12\%$). Finalizado el almacenaje a altas temperaturas, se evaluó la posibilidad de disminuir el nivel de dormición estratificando las semillas durante 50 d a 4,8 °C, cuando se evaluó la germinación a 10/24 °C ($68,6 \pm 3,9\%$).

Para evaluar la emergencia a campo en E3, se realizaron extracciones de bolsas (4 por tratamiento) desde inicios de otoño hasta inicios de verano. Tras cada extracción, las semillas fueron dispuestas sobre placas de Petri con 5 ml de agua destilada y se expusieron a la radiación solar durante 5 min. Luego, las semillas fueron dispersadas dentro de un área delimitada por cilindros de PVC de fondo abierto de 15 cm de diámetro y cubiertas con tierra hasta ~1,5 cm de profundidad. La emergencia se registró a diario durante un mes. En septiembre, se extrajeron bolsas de semillas adicionales con el propósito de realizar evaluar la germinación a 10/24 °C para estimar la viabilidad de las semillas ($90,5 \pm 2,6\%$). Los cilindros se regaron diariamente y se desmalezaron manualmente. La temperatura del suelo a 1,5 cm de profundidad fue registrada por hora (Temperature-Logger METEO4, SCH-10, Cavadevices.com, Argentina).

2.2.5. Desarrollo de modelos

Los parámetros que permiten describir la amplitud del rango térmico permisivo para la germinación durante la salida de la dormición primaria (E1) y la inducción en dormición secundaria (E2) fueron cuantificados empleando un modelo matemático basado en modelos previamente desarrollados por Washitani (1987). El modelo asume que las semillas pueden germinar entre una temperatura límite inferior y una temperatura límite superior, las cuales se distribuyen normalmente dentro de la población de semillas (Ellis et al. 1986; Washitani 1987). De acuerdo con esto, se utilizaron los límites para el 50% de la población ($T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$) y sus desvíos estándar (σ_{Tl} y σ_{Th}) para caracterizar el rango térmico permisivo para la germinación (i.e. el rango dentro del cual la dormición no se expresa; Batlla y Benech-Arnold 2015; Arana et al. 2016). La fracción de semillas capaz de germinar a una temperatura de incubación determinada puede ser calculada utilizando la siguiente función:

$$f(T) = \{ \Phi[(T - T_{l(50)}) / \sigma_{Tl}] - \{ 1 - \Phi[(T - T_{s(50)}) / \sigma_{Ts}] \} \} \quad (\text{Ecuación 2.1})$$

donde $f(T)$ es la fracción de semillas que germinan a una temperatura T y Φ es la función de distribución normal estándar acumulada. Los parámetros se obtuvieron minimizando la RCME entre los porcentajes finales de germinación observados y simulados (en E1 y E2) en el rango de temperatura sub-óptimo para la germinación (Batlla y Benech-Arnold 2015), mediante un procedimiento de optimización no lineal utilizando la herramienta de Solver de Microsoft Excel (2003-2010).

2.3. Resultados

2.3.1. Condiciones ambientales durante el crecimiento de las plantas y producción de semillas por planta

Variaciones en la fecha de siembra determinaron la exposición de las plantas a un rango relativamente amplio de condiciones fotoperiódicas, de radiación solar y de

temperatura, fundamentalmente durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas (Cuadro 2.1). En promedio, el fotoperíodo fue más corto, la radiación solar diaria más baja y la temperatura media diaria más alta para las plantas sembradas "más tarde" (primavera y verano) respecto de aquellas sembradas "más temprano" (otoño y invierno). Las condiciones ambientales (fotoperíodo, temperatura y radiación) durante los distintos períodos de cosecha evaluados (C1 y C2) resultaron más variables cuando las plantas se sembraron a fines de otoño que cuando estas fueron sembradas a inicios de verano (Cuadro 2.1).

Las variaciones en las condiciones ambientales previamente descriptas afectaron distintos aspectos del ciclo de vida de las plantas: el tiempo a floración, la extensión de la etapa de producción de semilla y la longitud total del ciclo (Fig. S2.1). El tiempo a floración y la longitud del ciclo fueron menores conforme se atrasó la fecha de siembra (e.g. la longitud total de los ciclos fue de ~290 d para las plantas sembradas a fines de otoño y de ~93 d para aquellas sembradas a inicios de verano en la estación de crecimiento 2015/16). Esto impactó significativamente sobre la producción de semillas por planta (Fig. 2.2): las plantas sembradas más tempranamente tuvieron, en general, una mayor producción de semillas que las aquellas plantas sembradas más tarde. En particular, las siembras de verano determinaron la menor producción de semillas (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$). Las plantas expuestas a la extensión de la duración del fotoperíodo (la cual se aplicó a partir del inicio de la floración) no exploraron variaciones en otras variables ambientales en relación a aquellas plantas que se mantuvieron bajo un fotoperíodo natural corto (Cuadro 1). Este tratamiento no afectó significativamente la producción de semillas por planta (Fig. 2.2). Estos resultados fueron consistentes en todas las estaciones experimentales.

Cuadro 2. 1. Valores promedio (\pm DE) de variables ambientales medidas durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas en plantas que fueron sembradas en diferentes fechas en tres estaciones de crecimiento consecutivas (2015/16, 2016/17 y 2017/18).

	Fecha de siembra	Temperatura media diaria (°C)	Temperatura media/absoluta mínima diaria (°C)	Temperatura media/absoluta máxima diaria (°C)	Fotoperíodo medio (h)	Radiación media diaria (MJ m ⁻²)
2015-2016	Otoño tardío C1	14,37(2,69)	9,63(3,01)/3,3	18,99(3,78)/26,1	12,43	15,97(2,01)
	Otoño tardío C2	18,64(4,97)	17,14(3,91)/3,6	25,79(5,06)/34,4	14,7	16,79(3,56)
	Otoño tardío	16,62(5,02)	13,45(3,98)/3,3	22,45(5,12)/34,4	13,6	16,40(3,64)
	Invierno tardío	22,40(3,90)	17,27(2,98)/7,4	22,83(4,08)/36,7	14,65	20,44(3,65)
	Primavera tardía	24,01(2,62)	17,96(3,23)/3,7	25,44(3,44)/36,7	13,7	16,52(9,48)
	Verano temprano C1	23,12(1,49)	15,70(4,96)/3,7	24,53(5,74)/34,8	14,28	23,86(5,96)
	Verano temprano C2	22,67(3,60)	14,27(4,93)/3,7	23,12(6,2)/34,8	13,01	12,50(5,72)
	Verano temprano	22,91(3,84)	14,99(5,12)/3,7	23,82(6,2)/38,8	13,64	18,20(6,05)
2016-2017	Mediados de invierno	20,59(4,32)	15,58(4,50)/3,4	25,73(5,13)/34,8	14,57	21,01(3,34)
	Verano temprano	24,79(2,79)	19,87(3,09)/10,7	29,82(3,25)/39,6	13,16	20,65(1,85)
2017-2018	Otoño tardío	20,61(4,53)	15,53(4,43)/6,2	26,41(5,30)/37,2	14,66	21,01(4,07)
	Mediados de invierno	20,98(4,53)	15,52(4,46)/6,2	26,40(5,31)/37,2	14,62	21,71(4,03)
	Primavera temprana	22,73(3,79)	17,17(3,99)/7,9	28,26(4,43)/37,2	14,65	20,27(5,61)
	Mediados de verano	19,70(3,15)	14,97(4,34)/3,9	24,51(5,27)/34,3	12,93	18,16(8,60)

C1 y C2 refieren a variables ambientales medidas durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas en la planta madre a lo largo de dos períodos de cosechas sucesivas de las semillas. “Otoño tardío” (2015/16) y “Mediados de invierno” (2016/17) refieren a plantas expuestas al fotoperíodo natural y extendido (+2 h o +4 h), dado que el fotoperíodo materno post-floración no alteró la fenología de las plantas. Los desvíos estándar se muestran entre paréntesis. Las semillas obtenidas de las siembras llevadas a cabo en 2015/16 remarcadas en negrita (i.e. **Otoño tardío** y **Verano temprano**) fueron las más utilizadas en los análisis realizados en el presente capítulo.

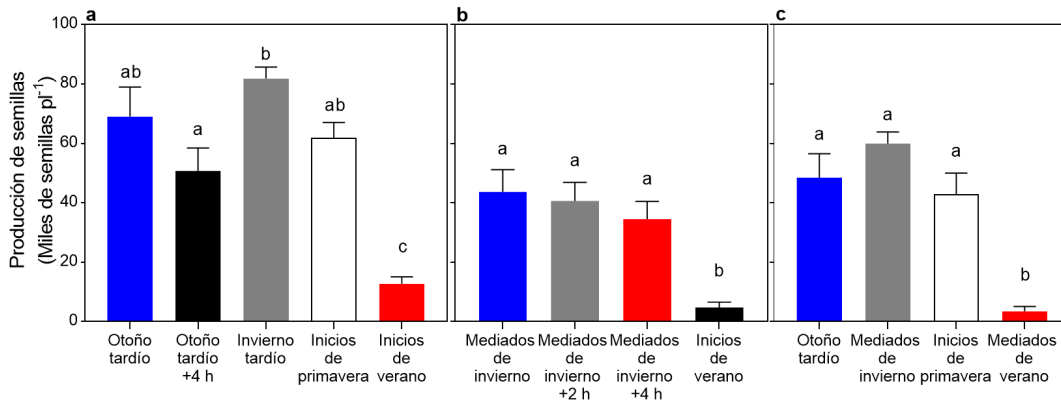


Figura 2. 2. Producción de semillas por planta de *P. aviculare* para cada fecha de siembra y tratamiento de fotoperíodo realizados en (a) 2015/16, (b) 2016/17 y (c) 2017/18. +2 h y +4 h indican la extensión del fotoperíodo. Las columnas representan la media y las barras verticales, el error estándar. Diferentes letras indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$) según las pruebas de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

2.3.2. Efecto del ambiente materno sobre la salida de la dormición primaria

Las semillas expuestas a diferentes condiciones ambientales durante su desarrollo y maduración debido a variaciones en la fecha de siembra mostraron diferencias en la salida de la dormición primaria (Fig. 2.3). Las semillas obtenidas de plantas sembradas "más temprano" (fines de otoño y fines de invierno) mostraron una menor tasa de salida de dormición durante la estratificación que aquellas provenientes de plantas sembradas "más tarde" (fines de primavera e inicios de verano) (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$; Fig. 2. 3). Las diferencias fueron más claras cuando las semillas se incubaron a 10/24 °C que a 15 °C (Fig. 2.3). Las diferencias descriptas resultaron consistentes para las tres estaciones de crecimiento (Fig. S2.2) y los distintos biotipos analizados (Fig. 2.3). La consistencia de los resultados en los tres años experimentales indica que los resultados obtenidos fueron consecuencia de cambios en el ambiente productivo de las semillas (Fig. 2.3 y S2.2).

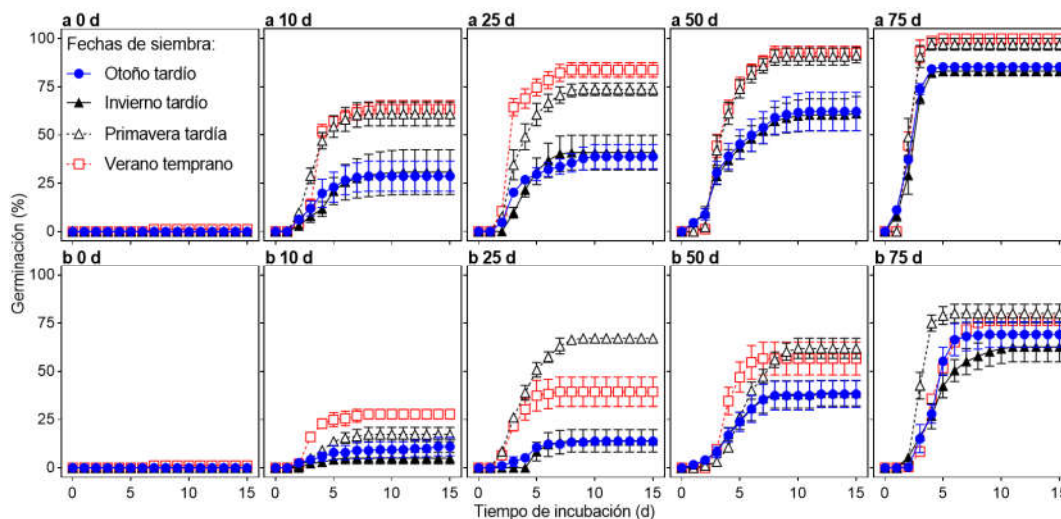


Figura 2. 3. Germinación acumulada (%) para semillas de *P. aviculare* incubadas a (a) 15 y (b) 10/24 °C durante 15 d luego de 0 (i.e. a cosecha), 10, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,8 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas en cuatro fechas diferentes realizadas en 2015/16. Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

Las semillas obtenidas de plantas sembradas a fines de otoño (expuestas a fotoperíodo natural y extendido +4 h) e inicios del verano (2015/16) fueron utilizadas para analizar la salida de dormición durante la estratificación a 1,6, 4,8 y 9,8 °C, mediante pruebas de germinación en un amplio rango térmico (10, 15, 20 y 25 °C y a 10/24 °C). En general, las semillas estratificadas a temperaturas más frías mostraron una salida de dormición primaria más rápida que aquellas estratificadas a mayor temperatura (Fig. 2.4). Más allá de este comportamiento general, se observó que la germinación de las semillas difirió según el tratamiento materno. Por su parte, el efecto de la fecha de siembra se dependió de la temperatura de estratificación e incubación (Fig. 2.4). Las diferencias se acentuaron bajo las temperaturas de estratificación “más frías” (1,6 °C y 4,8 °C), mientras que prácticamente no se observaron diferencias a 9,8 °C (excepto a 10/24 °C). A temperaturas de incubación constantes, las semillas de la siembra de inicios de verano germinaron más que aquellas de la siembra de fines de otoño, principalmente a las temperaturas de incubación más altas (20 y 25 °C). A 10/24 °C, las

semillas de la siembra de verano germinaron más que las obtenidas de la siembra de otoño, sin importar la temperatura de estratificación).

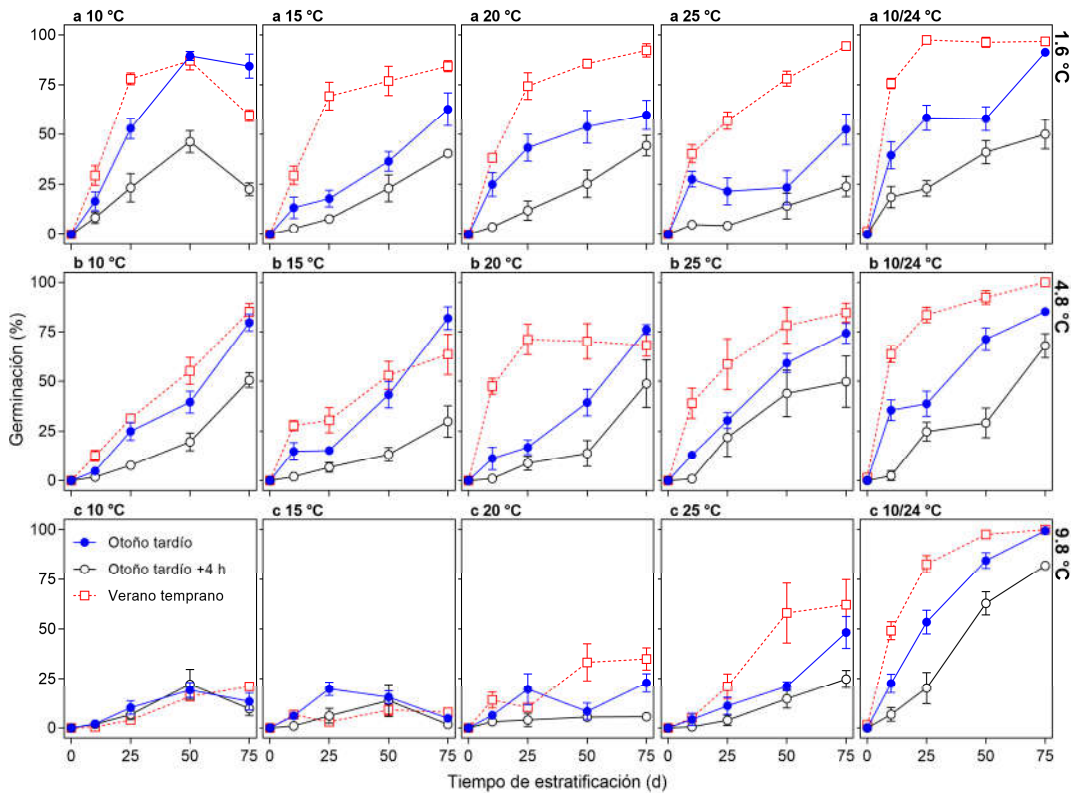


Figura 2. 4. Germinación final (%) para semillas de *P. aviculare* incubadas a 10, 15, 20, 25 y 10/24 °C durante 15 d luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d de estratificación en (a) 1,6, (d) 4,8 y (c) 9,8 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de otoño y expuestas al fotoperíodo natural, plantas sembradas a principios del verano y plantas sembradas a fines del otoño pero expuestas a +4 h (2015/16). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

Un fotoperíodo más largo aumentó el nivel de dormición primaria: las semillas de plantas expuestas a un fotoperíodo extendido +4 h mostraron menores porcentajes de germinación que aquellas semillas expuestas al fotoperíodo natural más corto (Fig. 2.4). En general, estas diferencias fueron de mayor magnitud a menor temperatura de estratificación (1,6 y 4,8 °C) y a menor temperatura de incubación (10 y 15 °C). A 10/24 °C, las variaciones en la germinación fueron evidentes bajo todas las condiciones de estratificación evaluadas (i.e. a 1,6, 4,8 y 9,8 °C). El efecto del fotoperíodo descripto fue consistente entre las distintas estaciones de crecimiento (Fig. 2.4 y S2.4) y para las

distintas extensiones de fotoperíodo analizadas (fotoperíodo natural, +2 h y +4 h). A su vez, este efecto fue consistente con las diferencias observadas entre C1 y C2 (Fig. 2.5) descritas en el párrafo anterior: cuando el fotoperíodo fue más largo (C2), las semillas mostraron un mayor nivel de dormición.

En semillas cosechadas en diferentes momentos durante la dispersión (Fig. 2.5), la salida de la dormición sólo difirió cuando las variaciones en el ambiente entre los períodos de cosecha fueron significativas (Cuadro 2.1). Las variables ambientales fueron más contrastes para plantas sembradas a fines de otoño que para aquellas sembradas a inicios de verano. Para las primeras, las semillas obtenidas de cosechas más tempranas (C1) mostraron una salida de la dormición más rápida durante la estratificación que aquellas obtenidas cosechas más tardías (C2), y este patrón fue similar para las semillas expuestas al fotoperíodo natural o +4 h. Las diferencias observadas entre C1 y C2 son consistentes con las descritas en el párrafo anterior: cuando el fotoperíodo fue más largo (C2), las semillas mostraron un mayor nivel de dormición.

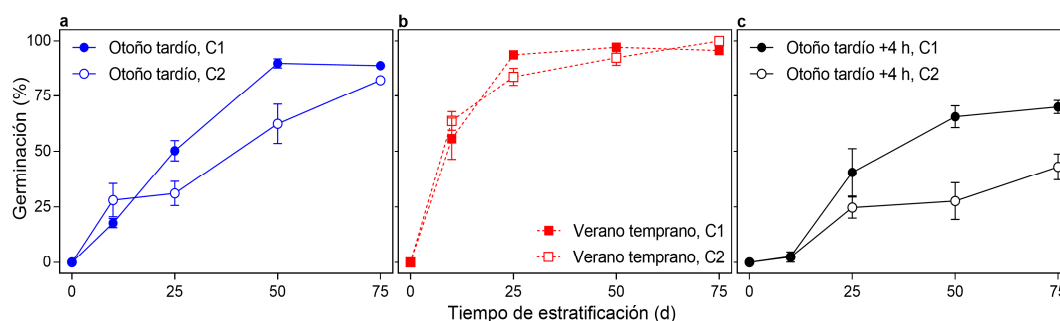


Figura 2. 5. Germinación final (%) para semillas de *P. aviculare* incubadas a 10/24 °C durante 15 d luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,8 °C. Las semillas se recolectaron en dos momentos, C1 y C2 de la dispersión de plantas sembradas en (a) fines de otoño y expuestas al fotoperíodo natural, (b) a principios del verano y (c) a fines de otoño y expuestas a +4 h (2015/16). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

En relación a la respuesta a la luz, las semillas obtenidas de las siembras de otoño (fotoperíodo natural y +4 h) y de verano mostraron variaciones importantes en sus requerimientos de luz para germinar (Fig. 2.6 y S2.4). A 10/24 °C (Fig. 2.6a), mientras

que en semillas obtenidas de la siembra temprana la germinación en oscuridad o luego de un pulso de RL se mantuvo por debajo del 25%, aquellas semillas obtenidas de la siembra de verano alcanzaron valores de germinación superiores al 75%. Luego de un pulso de RL, sólo las semillas obtenidas de la siembra de verano mostraron una respuesta VLFR (como se evidencia a 10/24 °C luego de 50 d de estratificación) y pérdidas de requerimientos de luz para germinar (a 10/24 °C luego de 75 d de estratificación, en oscuridad y luego de un pulso de RL). En relación a la germinación lograda luego de un pulso de R vs en oscuridad o RL, las diferencias fueron mayores para las semillas obtenidas de la fecha de siembra de otoño. A 15 °C (Fig. 2.6b), sólo se detectó un aumento progresivo de la germinación cuando las semillas fueron expuestas a un pulso de luz R (en los demás casos, la germinación fue menor al 15%).

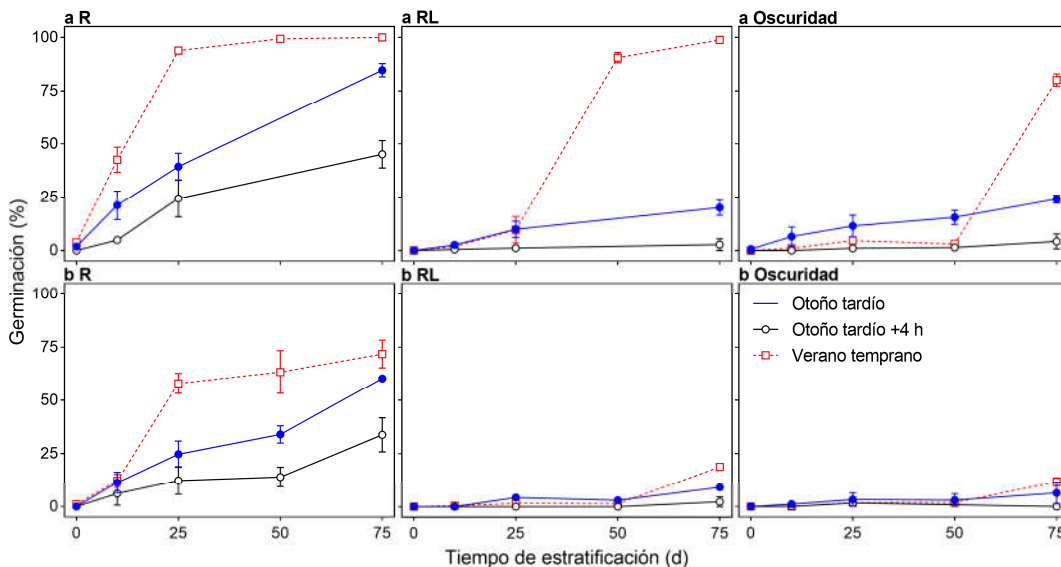


Figura 2. 6. Germinación final (%) para semillas de *P. aviculare* incubadas a (a) 10/24 y (b) 15 °C durante 15 d luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,8 °C y de ser expuestas a un pulso de 20 min: de luz R con una intensidad de $28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, luz RL con una intensidad de $32 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ u oscuridad constante. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de otoño expuestas al fotoperíodo natural, plantas sembradas a principios del verano y plantas sembradas a fines de otoño pero expuestas a +4 h (2015/16). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

La extensión del fotoperíodo determinó un aumento de los requerimientos de luz de las semillas para germinar (Fig. 2.6). Semillas obtenidas de plantas expuestas a un

fotoperíodo extendido +4 h no germinaron en oscuridad o luego de un pulso de RL bajo ninguna de las temperaturas de incubación evaluadas, mientras que aquellas semillas provenientes de plantas expuestas a un fotoperíodo natural corto germinaron en una mayor proporción bajo estas condiciones. Luego de un pulso de R (Fig. 2.6), los porcentajes de germinación también fueron menores para semillas de plantas expuestas al fotoperíodo extendido. Las diferencias fueron más consistentes a 10/24 °C (donde las variaciones llegaron a ser del orden del 50%) que a 15 °C, en semillas obtenidas en distintas estaciones de crecimiento (Fig. S2.4).

2.3.3. Efecto del ambiente materno sobre la inducción en dormición secundaria

Luego de ser estratificadas durante 65 d, y previo al almacenaje bajo condiciones que promueven la inducción en dormición secundaria (i.e. altas temperaturas y humedad), las semillas obtenidas de la siembra de inicios de verano mostraron niveles de germinación más altos que aquellas obtenidas de la siembra de fines de otoño (Fig. 2.7). Independientemente de la fecha de siembra, durante el almacenaje a altas temperaturas y humedad, la tasa de inducción en dormición secundaria fue mayor a 23,2 °C que a 19,8 °C. Esto se puede observar claramente en semillas incubadas a 10/24 °C, donde las semillas mostraron mayores valores de germinación después de 15 d de almacenaje a 19,8 °C que a 23,2 °C. Entre fechas de siembra, la germinación disminuyó a una mayor tasa (i.e. mayor tasa de inducción en dormición secundaria) en semillas obtenidas de la siembra de verano que en semillas provenientes de plantas sembradas en otoño. Por ejemplo, las semillas obtenidas de la siembra de verano mostraron una mayor germinación (~90%) que las de la siembra de otoño (~60%) a los 0 d de almacenaje cuando se incubaron a 20 °C; sin embargo, ambos grupos de semillas germinaron en la misma magnitud (menos del 10%) transcurridos 9 d de almacenaje a 23,2 °C.

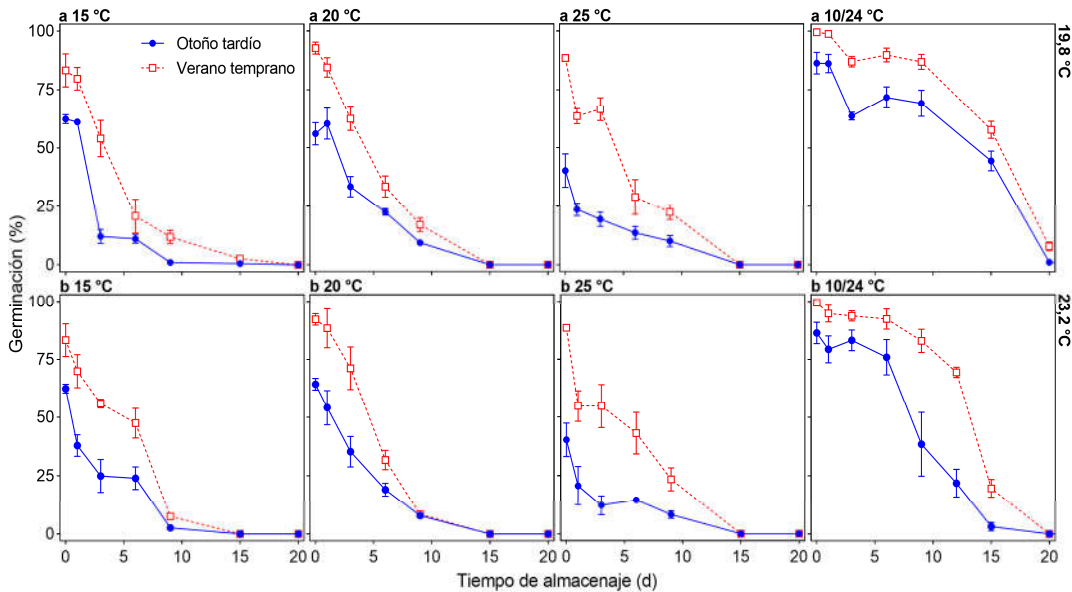


Figura 2. 7. Germinación final (%) para las semillas de *P. aviculare* incubadas a 15, 20, 25 y 10/24 °C durante 15 d, luego de 0, 1, 3, 6, 9, 15 y 20 d de almacenamiento en húmedo a (a) 19,8 y (b) 23,2 °C. Las semillas se estratificaron previamente a 4,8 °C durante 65 d y luego se transfirieron a estas condiciones de almacenamiento que inducen la dormición secundaria. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de otoño (y expuestas a condiciones naturales de fotoperíodo) y a inicios de verano (2015/16). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

2.3.4. Desarrollo de modelos

Se estimaron los parámetros térmicos poblacionales que permiten maximizar el ajuste entre los porcentajes de germinación final obtenidos experimentalmente en E1 (fechas de siembra contrastantes y tratamientos con fotoperíodo) y E2 (fechas de siembra contrastantes) y los porcentajes de germinación simulados para cada caso (Cuadro S2.1). En general, se logró una adecuada correlación entre los datos predichos y observados (Fig. S2.5). Sin embargo, los parámetros para semillas recién dispersadas (i.e. a cosecha) y para ciertas incubaciones no pudieron ser estimados debido a los bajos valores de germinación particularmente alcanzados (Cuadro S2.1).

Para establecer relaciones funcionales entre los parámetros estimados (i.e. $T_{l(50)}$, $T_{s(50)}$ y los desvíos de las temperaturas límites), el tiempo y la temperatura, se desarrollaron índices de tiempo térmico (TT). Para la dormición primaria, las unidades de TT de estratificación se calcularon sumando °Cd bajo una temperatura umbral para la

salida de dormición según el tiempo de estratificación y la temperatura (Batlla y Benech-Arnold 2003). Para la dormición secundaria, las unidades TT de inducción se calcularon sumando °Cd por encima de un umbral para la inducción según el tiempo de almacenaje y la temperatura (Malavert et al. 2017). En cada caso, los umbrales se determinaron como aquellos valores que permitieron maximizar el ajuste de modelos de regresión a la relación entre las temperaturas límite inferior, $T_{l(50)}$, y superior, $T_{s(50)}$, del rango térmico permisivo para la germinación y el TT acumulado.

2.3.5. Cuantificación del efecto del ambiente materno sobre la salida de la dormición primaria

Durante la salida de la dormición primaria, el rango térmico permisivo para la germinación de las semillas se amplió como consecuencia de una disminución de la $T_{l(50)}$ y, en algunos casos, un aumento de la $T_{s(50)}$ (Fig. 2.8). Estos cambios en la $T_{l(50)}$ y la $T_{s(50)}$ pudieron ser descriptos adecuadamente mediante el ajuste de ecuaciones lineales cuando se representaron gráficamente en función de unidades de TT de estratificación acumuladas por debajo de una temperatura umbral de 13,5 °C (Fig. 2.8). Las variaciones en la capacidad de las semillas para germinar a las temperaturas ‘más bajas’ y ‘más altas’ durante la estratificación (Fig. 2.4) dieron lugar a diferentes tasas de cambio de los límites del rango térmico ($P < 0,001$). La tasa de cambio de la $T_{l(50)}$ fue mayor para las semillas obtenidas de un ambiente de maduración más tardío, bajo un fotoperíodo materno más corto. Las variaciones en la $T_{s(50)}$ sólo ocurrieron en semillas obtenidas plantas sembradas en de diferentes fechas. La tasa a la cual aumentó este parámetro durante la salida de la dormición fue significativamente mayor para aquellas semillas obtenidas de plantas sembradas a inicios de verano (Fig. 2.8). Si bien las diferencias en la germinación entre las fechas de siembra se asociaron a cambios en la evolución de ambos límites, las diferencias en la $T_{s(50)}$ fueron mayores que en la $T_{l(50)}$.

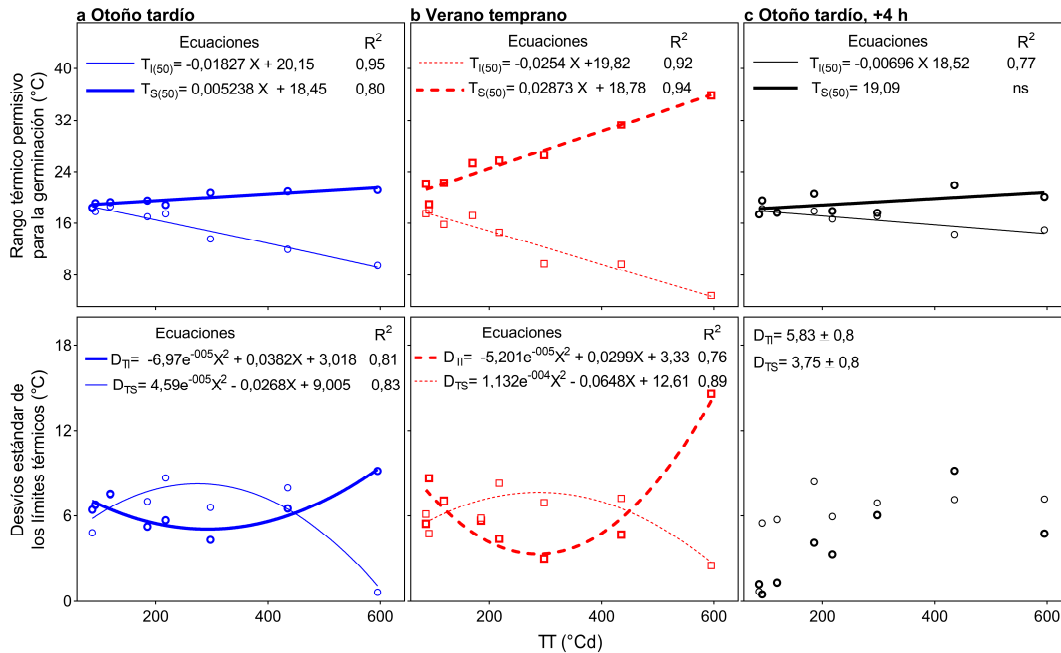


Figura 2. 8. Valores estimados de $T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$ (arriba) y los desvíos estándar de los límites (abajo) en función de la acumulación de TT de estratificación ($^{\circ}\text{Cd}$) a 1,6, 4,8 y 9,8 $^{\circ}\text{C}$ para semillas de *P. aviculare*. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas en (a) fines de otoño y expuestas al fotoperíodo natural, (b) inicios del verano y (c) fines de otoño y expuestas fotoperíodo extendido +4 h (2015/2016). Las unidades de TT de estratificación se acumularon bajo un umbral de 13,5 $^{\circ}\text{C}$. Las líneas/curvas gruesas representan los parámetros asociados al límite superior, mientras que las líneas/curvas finas representan a los parámetros asociados al límite inferior. Las ecuaciones que describen la relación entre los parámetros con el TT y sus R^2 se indican dentro de cada panel. Para el tratamiento de fotoperíodo, los desvíos estándar de ambos límites no mostraron un patrón de variación claro. Por ello, sus valores medios se indican dentro del panel correspondiente. Los análisis de regresión lineal y las pruebas de pendiente (con un nivel de significancia del 5%) se realizaron con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

Los desvíos estándar de los límites del rango térmico permisivo para la germinación (Fig. 2.8) ajustaron adecuadamente a ecuaciones cuadráticas cuando se graficaron en función de unidades de TT, mostrando una disminución o un aumento para T_l y T_s , respectivamente, hasta ~ 300 $^{\circ}\text{Cd}$, y una disminución o un aumento posterior, respectivamente. Por el contrario, los valores estimados para las semillas del tratamiento de fotoperíodo extendido +4 h no mostraron un patrón de variación claro (Fig. 2.8); por lo tanto, en este caso, se calcularon los promedios de cada desvío ($5,83 \pm 0,8$ $^{\circ}\text{C}$ y $3,75 \pm 0,8$ $^{\circ}\text{C}$ para los desvíos de T_l y T_s , respectivamente).

2.3.6. Cuantificación del efecto del ambiente materno sobre la inducción en dormición secundaria

Para las semillas obtenidas de las fechas de siembra más contrastantes (fines de otoño e inicios de verano), la evolución de los límites del rango térmico permisivo para la germinación ($T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$) durante el almacenaje en condiciones de humedad y alta temperatura se describió adecuadamente mediante ecuaciones lineales cuando se representaron en función de la acumulación de TT. Este TT de almacenaje fue acumulado por encima de una temperatura umbral para la inducción de 6 °C (Fig. 2.9). Los valores de los desvíos estándar no mostraron una variación clara, por lo que se calcularon sus promedios (Cuadro S2.1).

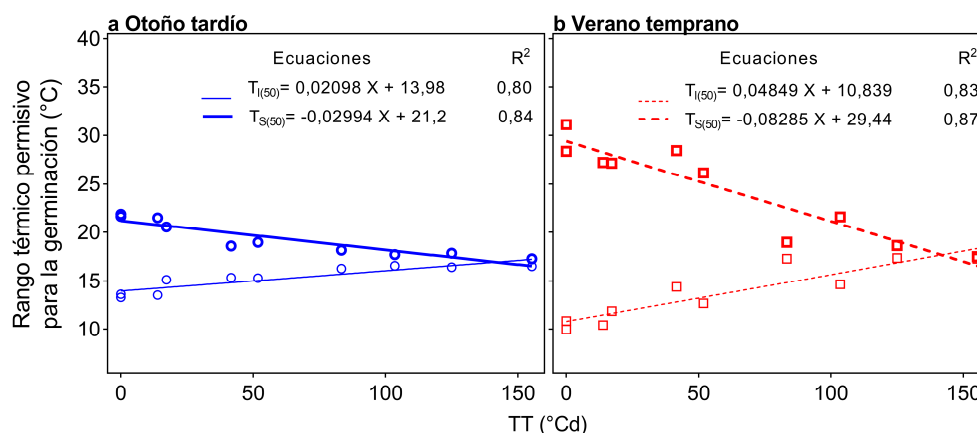


Figura 2. 9. Valores estimados de $T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$ en función de la acumulación de TT de inducción en dormición secundaria (°Cd) acumulado durante el almacenaje a 19,8 y 23,2 °C para semillas de *P. aviculare*. Las semillas se obtuvieron de (a) plantas sembradas a fines del otoño (y expuestas a fotoperíodo natural) y (b) plantas sembradas a inicios del verano (2015/16). Las unidades de TT se acumularon por encima de una temperatura umbral de 6 °C. Las líneas gruesas se refieren al límite superior, mientras que las líneas finas refieren al límite inferior. Las ecuaciones que describen la relación entre los parámetros con el TT y sus R^2 se indican dentro de cada panel. Los análisis de regresión y las pruebas de pendiente (con un nivel de significación del 5%) se realizaron con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

Durante la inducción en dormición secundaria, el rango térmico permisivo para la germinación de las semillas se redujo debido a un aumento de la $T_{l(50)}$ y una disminución de la $T_{s(50)}$ (Fig.2.9). Las tasas de cambio fueron diferentes ($P < 0,0001$) entre semillas provenientes de las siembras analizadas: el aumento de la $T_{l(50)}$ y la

disminución de la $T_{S(50)}$ fueron mayores para las semillas de la siembra de inicios de verano que para las de la siembra de fines de otoño. Estas diferencias determinaron que semillas de plantas sembradas en diferentes fechas alcanzaran valores similares de ambos límites (i.e. niveles de dormición secundaria) luego de ~ 140 °Cd (9-15 d de almacenaje), independientemente del nivel de dormición inicial.

2.3.7. Efecto del ambiente materno sobre la emergencia a campo

Las semillas se enterraron en el suelo al final de su período de dispersión: 1 de febrero (D1) para semillas obtenidas de plantas sembradas a fines de otoño (fotoperíodo natural y +4 h) y 8 de mayo (D2) para aquellas obtenidas de plantas sembradas a inicios de verano (Fig. S2.6). Las semillas de la fecha de siembra de fines de otoño (fotoperíodo natural) también se enterraron el 8 de mayo (D2), junto con las de verano, con fines comparativos. En términos generales, las plántulas aparecieron desde fines de otoño hasta fines de primavera (Fig. 2.10). La emergencia aumentó a partir de junio, alcanzó un pico entre agosto y septiembre (fines del invierno/inicios de primavera) y cesó a finales de noviembre (fines de primavera). La temporalidad de la emergencia y los porcentajes de emergencia alcanzados en cada caso dependieron del tratamiento de ambiente materno y del momento de entierro de las semillas.

A pesar de las variaciones observadas en la germinación bajo condiciones de laboratorio, cuando las semillas obtenidas de plantas sembradas en fechas contrastantes (otoño tardío y verano temprano) fueron enterradas en D1 y D2, se observó una sincronización en los patrones temporales de emergencia (Fig. 2.10). Sólo se detectaron variaciones en la magnitud y el mantenimiento del pico de emergencia de agosto-septiembre, mayores para aquellas semillas obtenidas de plantas sembradas más tarde (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$; Fig. 2. 10).

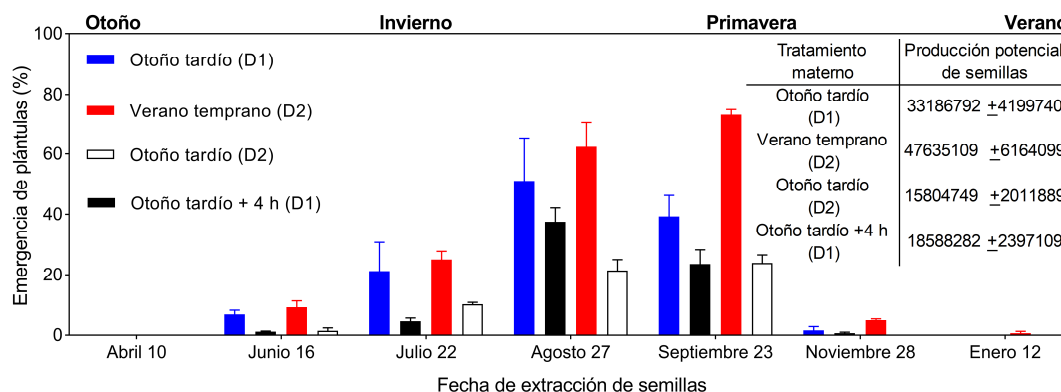


Figura 2. 10. Emergencia final de plántulas de *P. aviculare* (%) obtenida en 7 exhumaciones realizadas desde abril a enero. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de otoño (fotoperíodo natural y +4 h) e inicios de verano (2015/16). Las semillas se enterraron en el suelo a cosecha: 1 de febrero (D1) para las plantas sembradas en otoño y el 8 de mayo (D2) para las plantas sembradas a inicios de verano. Las semillas de plantas sembradas a fines de otoño y cultivadas bajo fotoperíodo natural fueron enterradas también el 8 de mayo. Las barras representan la media ($n=4$) y las verticales, los errores estándar. Cuadro interno: Producción potencial de semillas \pm IC (95%) modelada en base a las figuras 2.2 y S2.8; calculada para el total de plántulas emergidas. Supuestos: (i) todas las plántulas emergidas sobreviven, (ii) las condiciones de crecimiento son óptimas y (iii) la menor producción de semilla alcanzable es cero.

En cambio, cuando las semillas obtenidas de plantas sembradas en fechas contrastantes se enterraron el 8 de mayo (D2), se observó una variación en los patrones de emergencia, tanto en la temporalidad como en la proporción lograda por cada tratamiento (Fig. 2.10). Las semillas obtenidas de la fecha de siembra de fines de otoño mostraron un retraso en el inicio de la emergencia (en junio, la emergencia fue prácticamente nula) y menores porcentajes de emergencia en los meses de julio a septiembre que aquellas de la siembra de inicios de verano. Dado que las semillas obtenidas de plantas sembradas en otoño fueron almacenadas en seco hasta su entierro en D2, se realizaron pruebas de germinación a 15 y 10/24 °C para evaluar posibles cambios en su nivel de dormición. La germinación no mostró variaciones en ningún caso (germinación <2% para ambos tratamientos); por lo cual, es posible afirmar que las diferencias observadas en la emergencia no se debieron al almacenaje previo al entierro.

Las semillas obtenidas de plantas sembradas en otoño y enterradas en D2 representarían el comportamiento de semillas dispersadas más tarde (debido a una

siembra de la planta madre más tardía) si no presentaran cambios en el nivel de dormición por efecto del ambiente materno. Con el fin de analizar cómo impacta el efecto del ambiente materno sobre la capacidad reproductiva de las plantas, se modeló la producción potencial de semillas por planta en función del momento de emergencia (Fig. S2.8) y se estimó la producción total de semillas para cada tratamiento (Fig. 2.10, Cuadro interno). Si las semillas obtenidas de la siembra de verano (que son dispersadas más tarde, en D2) no salieran más rápido de la dormición verían disminuido su rendimiento reproductivo en aproximadamente un 70%.

En cuanto al fotoperíodo, las semillas obtenidas de plantas expuestas a distintos fotoperíodos a partir de floración también mostraron variaciones en la emergencia (Fig. 2.10). Las semillas de plantas expuestas a un fotoperíodo más largo (+4 h) mostraron un atraso en el inicio de la emergencia y porcentajes de emergencia más bajos que aquellas semillas recolectadas de plantas crecidas bajo un fotoperíodo natural más corto (Fig. 2.10). Sin embargo, el final de la ventana de emergencia (extracción de fines de noviembre) coincidió para ambos tratamientos. El efecto de la extensión del fotoperíodo también determinó una disminución significativa de la producción potencial de semillas de la nueva generación de individuos (Fig. 2.10, Cuadro interno).

2.3.8. Aplicación de los modelos de salida y entrada en dormición

Los modelos desarrollados (Fig. 2.8 y 2.9) se utilizaron para simular los patrones de germinación para semillas obtenidas de plantas sembradas a fines de otoño e inicios de verano (Fig. 2.11). Brevemente, durante el período caracterizado por incrementos en la emergencia con el tiempo, tanto las temperaturas límites ($T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$) como sus desvíos estándar se calcularon utilizando los modelos de salida de la dormición primaria (Fig. 2.8). Durante el período caracterizado por una disminución de la emergencia, los parámetros térmicos se estimaron utilizando los modelos de inducción en dormición

secundaria (Fig. 2.9). Las unidades térmicas se calcularon, en cada caso, de acuerdo con los registros de temperatura del suelo del experimento a campo (Fig. S2.6). Las simulaciones predijeron correctamente el patrón temporal de emergencia, pero subestimaron los porcentajes observados (Fig. 2.11). Sin embargo, la precisión de la simulación mejoró significativamente cuando se incluyó el efecto de la alternancia térmica sobre la terminación de la dormición a los modelos (Fig. S2.7).

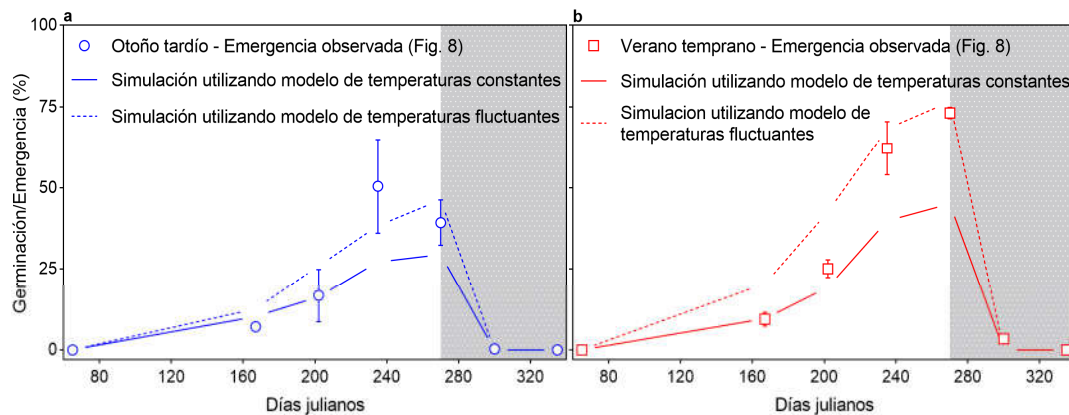


Figura 2. 11. Emergencia (%) observada de plántulas de *P. aviculare* a campo vs curvas de germinación simuladas. Las simulaciones se realizaron utilizando los modelos desarrollados con datos de germinación obtenidos bajo temperaturas de incubación constantes (Fig. 2.8 y 2.9), y los modelos que incorporan la respuesta de las semillas a la alternancia térmica (Fig. S2.7). Las semillas utilizadas en el experimento de campo se obtuvieron de plantas sembradas en (a) fines de otoño y (b) inicios de verano. Los símbolos representan la media ($n=4$) de la emergencia observada a campo y las barras verticales, el error estándar. El área blanca indica el período durante el cual la emergencia aumentó con el tiempo y el área gris, aquel donde la emergencia disminuyó.

2.4. Discusión

Las semillas ajustan continuamente su nivel de dormición, lo cual les permite emerger en el contexto adecuado (Finch-Savage y Footitt, 2012). En el presente trabajo, mediante el uso de modelos de umbral de base poblacional combinados con experimentos de laboratorio y de campo, se mostró que el ambiente materno ejerce un ajuste muy preciso del nivel de dormición de las semillas, el cual contribuye a que la nueva generación maximice su capacidad reproductiva. Este ajuste ocurrió a través de efectos del ambiente materno sobre la salida de dormición primaria (Fig. 2.3, 2.4 y 2.5),

la inducción en dormición secundaria (Fig. 2.7), las respuestas de las semillas a las temperaturas alternadas (Fig. 2.3, 2.4, 2.5 y 2.6) y las respuestas de las semillas a la luz (Fig. 2.6). Esto, a su vez, afectó el momento y la proporción de la emergencia bajo condiciones de campo (Fig. 2.10). En general, los resultados mostraron que la complejidad de este fenómeno conduciría a interpretaciones erróneas si los estudios de laboratorio y de campo no se realizaran en forma complementaria y simultánea.

A campo, las poblaciones de semillas obtenidas de las fechas de siembra más contrastantes mostraron una sincronización temporal de sus patrones de emergencia (Fig. 2.10 y 2.11). Esto ocurrió a pesar de las diferencias significativas que se detectaron en sus tasas de salida e inducción en dormición (Fig. 2.7 y 2.8): aunque los porcentajes de emergencia variaron en septiembre, no se observaron diferencias entre tratamientos durante el resto de la ventana de emergencia. Recientemente se informaron resultados similares para *Arabidopsis thaliana*, cuyas semillas mostraron similares niveles de emergencia habiendo sido dispersadas en primavera y otoño (Edwards et al. 2017). Según los autores, esto ocurrió debido a una disipación del efecto materno que tuvo lugar ni bien las semillas respondieron a sus propios ambientes en el suelo.

En el presente capítulo se demostró, a través de la cuantificación de los parámetros poblacionales que caracterizan el nivel de dormición (Fig. 2.7 y 2.8), que la sincronización observada en los patrones temporales de emergencia no se debió a una disipación del efecto del ambiente materno, sino, por el contrario, a una consecuencia directa de este efecto, como fue sugerido previamente Burghardt et al. (2016). Aunque las semillas de la siembra de verano se enterraron tres meses más tarde que las de la siembra de otoño, una mayor tasa de salida de la dormición compensó su período más corto de exposición a las condiciones que promueven la salida de la dormición (i.e. temperaturas $<13,5\text{ }^{\circ}\text{C}$), por lo que lograron niveles de dormición similares al comienzo

de la ventana de emergencia (Fig. 2.10). Además, una inducción en dormición secundaria más rápida en las semillas de la siembra de verano determinó el final de la emergencia a fines de la primavera, en coincidencia con lo observado para semillas de la siembra de otoño (esto ocurrió a pesar de que las semillas de la siembra de verano alcanzaron una dormición menor en septiembre, denotada por una mayor emergencia). Los resultados obtenidos utilizando semillas recolectadas en C1 y C2 (Fig. 2.5) sugieren que incluso las condiciones prevalecientes para una misma cohorte de plantas podrían contribuir a la sincronización de la emergencia de semillas dispersadas en diferentes momentos (C1 y C2 corresponderían a una dispersión temprana y tardía, respectivamente).

Este trabajo analizó cuantitativamente el efecto materno a través de la estimación de los cambios en el rango térmico permisivo para la germinación de semillas. Los modelos (Fig. 2.8 y 2.9) se realizaron utilizando un enfoque de TT que considera que la salida de dormición ocurre por debajo de un umbral de 13,5 °C, un valor más bajo que el reportado anteriormente para semillas de esta especie (17 °C; Batlla y Benech-Arnold 2003). Más allá de la metodología matemática utilizada, la baja germinación lograda por las semillas cuando fueron estratificadas a 9,8 °C (Fig. 2.4) explicaría al menos parcialmente el umbral obtenido, no muy lejos de esta temperatura de estratificación. Valores cercanos a este umbral han sido informados previamente en otras especies anuales de verano, como *P. persicaria* -15,5 °C- y *Chenopodium album* -16,6 °C- (Vleeshouwers y Bouwmeester 2001). Por otro lado, en contraste con otros modelos obtenidos para *P. aviculare* donde únicamente varió la T_l durante la salida de la dormición (Batlla y Benech-Arnold 2003), en este trabajo se observaron cambios en ambos límites del rango térmico ($T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$; Fig. 2.8).

Las variaciones observadas en el rango térmico permisivo para la germinación dependieron del ambiente materno (Fig. 2.8 y 2.9). Mientras que en semillas obtenidas de la siembra temprana, los cambios en $T_{l(50)}$ fueron mayores que en $T_{s(50)}$, en aquellas de la siembra tardía los cambios en $T_{s(50)}$ fueron mayores que en la $T_{l(50)}$. Esta fue la consecuencia de los altos niveles de germinación observados a las temperaturas de incubación más altas (20 y 25 °C) en semillas obtenidas de la fecha de siembra tardía (Fig. 2.4), lo que, además, explicaría la mayor emergencia en el campo de estas últimas durante la primavera (septiembre; Fig. 2.10), cuando las temperaturas están aumentando. En resumen, estos resultados indican que el ambiente materno podría afectar de manera diferente el rango térmico en el que se expresa la dormición (i.e. la germinación a diferentes temperaturas), y que esto podría tener consecuencias sobre el patrón temporal de emergencia en el campo.

La inducción en dormición secundaria (Fig. 2.9) se ha modelado recientemente para las semillas de *P. aviculare* (Malavert et al. 2017). Según este modelo, las temperaturas superiores a 7,9 °C aumentan el valor de la temperatura límite inferior ($T_{l(50)}$). Aquí, se estimó un umbral de temperatura para la inducción en dormición similar, aunque menor (6 °C). por otro lado, mientras Malavert et al. (2017) encontraron que sólo la $T_{l(50)}$ cambió durante la inducción en dormición secundaria, en el presente trabajo ambos límites del rango térmico variaron durante el proceso de inducción (Fig. 2.9). Las semillas obtenidas de la siembra de verano mostraron una mayor tasa de inducción en dormición secundaria que aquellas obtenidas de la siembra de otoño. En consecuencia, semillas obtenidas de diferentes fechas de siembra alcanzaron niveles de dormición secundaria similares en pocos días (o °Cd), a pesar de las diferencias observadas al inicio del proceso inductivo en el nivel de dormición primaria (i.e. a los 0 d de almacenaje a altas temperaturas).

De manera consistente en diferentes biotipos (Fig. S2.3), los resultados obtenidos revelan diferentes vías a través de las cuales el efecto del ambiente materno incide sobre el ajuste temporal de la emergencia en semillas de *P. aviculare*. Las variaciones en el ambiente materno provocaron cambios significativos del nivel de dormición de las semillas post-dispersión, así como variaciones en las respuestas a los factores que terminan la dormición, en pos de no variar la dinámica temporal de la germinación. El ecotipo principalmente utilizado en este trabajo proviene de una región con probabilidad de heladas en otoño, invierno y primavera (Fig. 2.12). Su emergencia no debería ocurrir tan tempranamente como para exponer a las plantas a daños por heladas durante sus etapas reproductivas, ni demasiado tarde porque se reduciría significativamente la producción de semillas por planta (Fig. 2.12). Así, la maximización de la capacidad reproductiva de los individuos resulta del equilibrio entre maximizar la prevención del daño por heladas y la anticipación de la emergencia para permitir más tiempo para la reproducción (Donohue et al. 2010). Los datos sugieren que el efecto del ambiente materno contribuiría a este equilibrio alterando el nivel de dormición de semillas maduras y dispersadas en diferentes momentos de modo de que la mayor fracción del banco emerja en la ventana temporal que permite a los nuevos individuos maximizar su producción de semillas en condiciones naturales (Fig. 2.10 y 2.12).

Los datos presentados sugieren que el efecto del ambiente materno sobre el nivel de dormición tendría un impacto menor en la dinámica poblacional de lo que se creía anteriormente (Auge et al. 2017), ya que actuaría fundamentalmente evitando variaciones en los patrones temporales de emergencia. Esto posee sustento desde un punto de vista ecológico, ya que el cambio en el patrón temporal de la emergencia ciertamente disminuiría el éxito reproductivo de las plantas y sería perjudicial para la perpetuación de la población (Fig. 2.9 y 2.11). La relevancia ecológica de mantener un

patrón temporal de emergencia relativamente estable puede ser menor en especies invierno facultativas como *A. thaliana*. Estas plantas pueden atravesar períodos desfavorables como rosetas; por lo tanto, emerger en diferentes ventanas temporales (i.e. otoño y primavera) no implicaría, necesariamente, consecuencias adversas sobre la capacidad reproductiva de los individuos. En especies anuales como *P. aviculare*, en cambio, la emergencia en la ventana temporal adecuada es fundamental optimizar su supervivencia y reproducción.

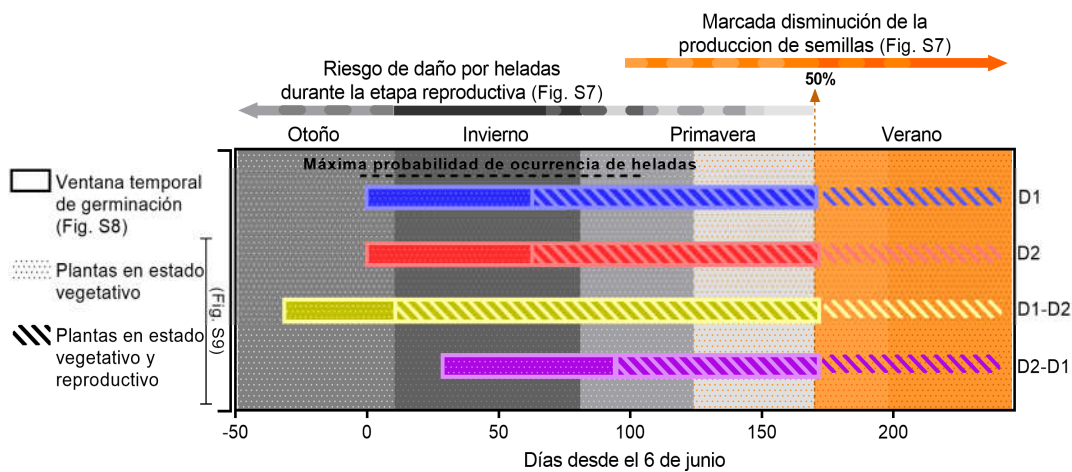


Figura 2. 12. Las columnas horizontales refieren al período de germinación simulado para semillas de *P. aviculare* que se dispersaron a mediados de verano (D1) o de otoño (D2), según la figura S2.9. En azul (D1) y en rojo (D2), se representan los períodos simulados considerando tasas de salida e inducción en dormición variables (por efecto del ambiente materno); en amarillo (germinación para semillas dispersadas en D1, usando tasas de salida e inducción en dormición de D2) y en violeta (germinación para semillas dispersadas en D2, usando tasas de salida e inducción en dormición de D1) se representan escenarios alternativos en los cuales las tasas de salida e inducción en dormición no son afectadas por el ambiente materno. Dentro de las columnas, las secciones punteadas indican el período en el que todas las plantas son vegetativas; y las secciones a rayas muestran el período en el que coexisten plantas reproductivas y vegetativas, según la figura S2.10. La ventana de ocurrencia de heladas está representada por el área gris (la línea punteada negra indica el período de máxima probabilidad, según la figura S2.8); el gradiente, junto con la flecha en la parte superior, en grises representan la intensidad de las heladas. El período de altas reducciones en la producción de semillas se muestra en naranja (Fig. S2.10). El efecto del ambiente materno sincronizó la germinación y maximizó el equilibrio entre reducir el riesgo de daños por heladas durante la etapa reproductiva y anticipar la emergencia para permitir una mayor reproducción. En cambio, en los escenarios alternativos (D1-D2 y D2-D1), se observó un adelanto o un retraso en el inicio de la germinación. El adelanto implicaría un mayor riesgo de daño por heladas durante la etapa reproductiva de las plantas. El retraso acortaría el período durante el cual las plantas producen semillas.

Respecto al fotoperíodo, este factor fue estudiado independientemente de otras variables ambientales que cambian con la fecha de siembra (Fig. 2.5). En coincidencia con otras especies (Gutterman y Evenari 1972; Kigel et al. 1979; Munir et al. 2001; Imaizumi et al. 2017), una mayor longitud del día aumentó el nivel de dormición y disminuyó la tasa de salida de la dormición primaria. En este sentido, Donohue et al. (2005) encontraron para *A. thaliana* que el efecto del fotoperíodo era sutil e interpretaron que las condiciones posteriores a la dispersión disipaban este efecto. Aquí, el efecto del fotoperíodo materno persistió notablemente bajo condiciones de campo al afectar los patrones de emergencia (Fig. 2.10). Las plantas sembradas más tarde se expusieron a fotoperíodos más cortos durante la fase reproductiva que las sembradas antes, y los cambios expresados en la dormición ocurrieron en una dirección similar a la de los ensayos de fotoperíodo. Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que el fotoperíodo materno podría ser uno de los factores involucrados en la regulación de los cambios en el nivel de dormición de semillas de *P. aviculare* debido a variaciones en la fecha de siembra de la planta madre. Esto tiene implicaciones ecológicas relevantes teniendo en cuenta que el fotoperíodo representa una clara señal estacional (Donohue 2009).

CAPÍTULO 3

La regulación del ambiente materno sobre la emergencia de *Amaranthus hybridus* sugiere la existencia de un rol ecológico común a distintas especies

Resumen

Diferentes trabajos sugieren que la fecha de siembra, el fotoperíodo y la temperatura materna podrían determinar similares efectos sobre la dormición en semillas de distintas especies. Sin embargo, no hay antecedentes que indaguen la existencia de un rol ecológico de la regulación materna sobre la dormición común para distintas especies. En el presente capítulo se analizó el efecto de la fecha de siembra y el fotoperíodo materno sobre la dormición en semillas de *Amaranthus hybridus*. Los resultados mostraron que variaciones en la fecha de siembra determinaron importantes cambios en el nivel de dormición de las semillas a la dispersión, lo cual condujo a una sincronización temporal de los patrones de emergencia de la descendencia en el campo. Tal como se describió para *Polygonum aviculare* en el Capítulo 2, este efecto determinó que la emergencia de *A. hybridus* presentara un patrón que permite a la nueva generación de plantas maximizar su capacidad reproductiva, lo cual pudo verificarse mediante el desarrollo de modelos y simulaciones. Este trabajo sustenta la hipótesis de que el efecto del ambiente materno podría presentar un rol ecológico común para distintas especies y brinda información preliminar acerca de los mecanismos asociados a este efecto en semillas de *A. hybridus*.

3.1. Introducción

El Capítulo 2 de la presente tesis mostró cómo el ambiente materno modula el nivel de dormición de las semillas de *Polygonum aviculare* maduras y dispersadas en diferentes momentos debido a cambios en la fecha de siembra de la planta madre. A diferencia de la idea predominantemente señalada por la bibliografía, las variaciones en

el ambiente materno explorado por las semillas de *P. aviculare* no determinaron cambios en los patrones temporales de emergencia a campo. Por el contrario, condujeron a una sincronización temporal de la emergencia de manera tal de ubicar los principales flujos de emergencia en aquel período que permite maximizar la capacidad reproductiva de las plantas, en coincidencia con lo sugerido para *Arabidopsis thaliana* por algunos autores (Springthorpe y Penfield 2015; Burghardt et al. 2016; Edwards et al. 2017). Esto tiene sentido desde un punto de vista ecológico y adaptativo, ya que la situación opuesta (i.e. cambios en los patrones de emergencia) ciertamente disminuiría la capacidad reproductiva de los individuos y sería perjudicial para la perpetuación de las poblaciones.

Diferentes trabajos muestran que semillas de distintas especies tales como *Amaranthus hybridus* (Barton 1962; Frost 1971), *A. retroflexus* (Kigel et al. 1977; Chadoeuf-Hannel y Barralis 1982), *Chenopodium polyspermum* (Pourrat y Jacques 1975), *C. quinoa* (Ceccato et al. 2015), *C. album* (Karssen 1970) y *A. thaliana* (Springthorpe y Penfield 2015; Kendall et al. 2011; Kendall et al. 2011; Burghardt et al. 2016; Edwards et al. 2017) presentan menos dormición cuando provienen de plantas cultivadas más tarde en la estación de crecimiento, o plantas crecidas bajo días cortos o temperaturas altas. Esto sugiere que el efecto detectado para *P. aviculare* y descrito previamente podría ser común en semillas de distintas especies. Se desconoce, no obstante, si estas variaciones en el comportamiento germinativo de las semillas observadas bajo condiciones controladas de laboratorio se asocian a la posibilidad de las plantas de sincronizar su emergencia y maximizar su producción de semillas en el campo, como fue comprobado para *P. aviculare* en el capítulo anterior.

Por otro lado, el efecto del ambiente materno sobre la dormición ha sido especialmente detectado en aquellas especies cuyas semillas presentan dormición por

cubiertas, debido a la influencia dominante del genoma materno sobre el desarrollo y la fisiología de estos tejidos (revisado por: Penfield y MacGregor 2017; y Penfield 2017). Por ejemplo, en los casos anteriormente mencionados para el género *Chenopodium* (Karssen 1970; Pourrat y Jacques 1975; Ceccato et al. 2015), el efecto de la fecha de siembra y el fotoperíodo materno se asoció a cambios en características estructurales de las semillas, tales como variaciones en el grosor de sus cubiertas. Avanzar sobre nuestro conocimiento acerca de las vías a través de las cuales la planta madre ejerce su control sobre el comportamiento germinativo de la descendencia contribuiría a la interpretación ecológica y funcional de la información disponible.

Analizar la existencia de efectos del ambiente materno similares en diferentes especies contribuiría a comprender el funcionamiento de las poblaciones naturales. Por ello, en el presente capítulo se estudió el efecto del ambiente materno sobre la dormición en semillas de *A. hybridus* (ex *quitensis*), una especie maleza de relevancia en los sistemas productivos. Existen trabajos previos que muestran que las semillas de *A. hybridus* presentan dormición impuesta por cubiertas (Faccini y Barat 1989) y que su comportamiento germinativo se modifica por las condiciones del ambiente materno (Faccini y Vitta 2005). En el presente capítulo, mediante una combinación de experimentos de campo y laboratorio y el desarrollo de modelos umbral de base poblacional, se investigó el efecto de la fecha de siembra de la planta madre sobre (i) el nivel de dormición a la dispersión y durante la post-maduración de las semillas (a través de cambios en el rango térmico permisivo para la germinación), (ii) la respuesta de las semillas a la alternancia térmica y a la luz y (iii) los patrones de emergencia a campo. También se analizó qué factores del ambiente materno estarían involucrados en esta regulación, así como la función de las cubiertas de las semillas en los efectos observados.

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Experimentos de ambiente materno

Distintos experimentos se realizaron durante tres estaciones de crecimiento consecutivas en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (34° 25' S, 58° 25' O).

3.2.1.1. Exposición de las plantas a variaciones en las condiciones ambientales a través de cambios en la fecha de siembra

Con la finalidad de exponer a las plantas a variaciones en las condiciones ambientales durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas, se llevaron a cabo siembras en diferentes fechas (Fig. 3.1). En 2015/16 las siembras se realizaron: a fines de invierno (12 de septiembre), mediados de primavera (16 de noviembre), fines de primavera (15 de diciembre), inicios de verano (19 de enero) y mediados de verano (16 de febrero). En 2016/17: fines de primavera (10 de noviembre), inicios de verano (6 de enero) y mediados de verano (20 de febrero).

3.2.1.2. Exposición de las plantas a variaciones en el fotoperíodo durante la etapa reproductiva:

Con el fin de evaluar el efecto del fotoperíodo explorado por las semillas durante su desarrollo y maduración en la planta madre, plantas sembradas a mediados de verano (1 de febrero) de 2018 fueron expuestas a extensiones artificiales del fotoperíodo (+1,5 o +4 h respecto del fotoperíodo natural) desde el inicio de la etapa reproductiva hasta la dispersión natural de las semillas (Fig. 3.1).

En todos los casos, se utilizaron cuatro réplicas por tratamiento, cada una conformada por cinco plantas en 2015/16, dieciséis en 2016/17 y tres, en 2018. Las semillas utilizadas para generar las plantas se obtuvieron de campos productivos localizados en Pergamino (33° 53' S, 60° 34' O), Argentina. Las semillas se sembraron en macetas

(sustrato: suelo, arena y perlita, 3: 2: 1) y se mantuvieron en un invernáculo durante 5-10 d (a $24,56 \pm 6,78$ °C), momento a partir del cual las plántulas obtenidas se trasplantaron al suelo (2015/16 y 2018) o a macetas (mismo sustrato) de 20 dm³ (2016/17) en el campo. Las extensiones de fotoperíodo se impusieron utilizando las luminarias portátiles descritas en el Capítulo 2 (Ver materiales y métodos).

El inicio de la etapa reproductiva de cada planta se registró cuando la inflorescencia se hizo visible. Durante esta etapa, las inflorescencias se envolvieron con bolsas de poliamida para impedir la polinización cruzada. Estas bolsas son similares a las utilizadas para impedir la polinización cruzada en girasol (Fig. 3.1). La cosecha se inició una vez comenzada la dispersión natural de las semillas de la maleza dentro de las bolsas. Al final de los experimentos (contenido hídrico de las semillas $10,7 \pm 0,68\%$, en base peso fresco), se midió la altura de las plantas y se realizó la cosecha de las inflorescencias. Las semillas de cada planta individual fueron acondicionadas y dispuestas en bolsas de papel (~ 20 °C). Los experimentos de post-maduración en laboratorio y a campo se iniciaron inmediatamente luego del acondicionamiento (el inicio de estos en ningún caso superó los 3 d post-cosecha). Se estimó el peso medio de 1000 semillas y la producción de semillas por planta. Los datos ambientales se obtuvieron de una estación meteorológica ubicada a 20 m del sitio experimental.



Figura 3. 1. Vista del experimento de extensión artificial del fotoperíodo llevado a cabo con plantas de *A. hybridus*.

3.2.2. Experimentos de post-maduración

3.2.2.1. Dormición primaria

El Experimento 1 (E1) buscó evaluar el efecto del ambiente materno sobre el nivel de dormición de las semillas a cosecha y su disminución durante la post-maduración bajo distintas condiciones de humedad y temperatura. Para ello, las semillas de todos los experimentos fueron estratificadas a $4,8 \pm 0,05$, $9,6 \pm 0,08$ y/o $15,3 \pm 0,11$ °C y almacenadas en seco a 5 y 25 °C. A los 0 (i.e. a cosecha), 5, 10, 25, 60, 75 y 100 d de post-maduración se evaluó la germinación bajo un amplio rango de temperaturas de incubación constantes (10, 15, 20, 25, 30, 35 °C) y alternadas (10/24, 20/30 y/o 20/35 °C; 12 h/12 h). Las semillas obtenidas de las siembras de fines de invierno e inicios de verano estratificadas a 4,8 °C e incubadas a 25 y 20/30 °C fueron, a su vez, utilizadas para evaluar cambios en los requerimientos de luz para germinar. Las semillas obtenidas de los ensayos de fotoperíodo sólo fueron estratificadas a 4,8 °C y almacenadas en seco a 25 °C (durante 75 y 400 d, respectivamente).

El Experimento 2 (E2) se llevó a cabo con el fin de evaluar el rol de las cubiertas utilizando semillas obtenidas de distintas fechas de siembra y fotoperíodos maternos. Para ello, luego de distintos intervalos de post-maduración bajo distintas condiciones, se evaluó la germinación en semillas con cubiertas intactas y perforadas y embriones aislados a 10, 15, 20, 25, 30 y/o 35 °C. A su vez, para analizar las vías hormonales involucradas se utilizaron distintos medios de incubación (agua destilada, diferentes concentraciones exógenas de ABA, GA₃ y FLU).

3.2.2.2. Patrones temporales de emergencia a campo

El Experimento 3 (E3) tuvo por objetivo analizar el efecto del ambiente materno sobre los patrones de emergencia a campo. Para ello, semillas obtenidas de plantas sembradas (i) a fines de invierno y mediados de verano (2015/16) y (ii) fines de

primavera y mediados de verano (2016/17) fueron enterradas en el suelo a cosecha. Con el fin de evaluar la proporción de plántulas emergidas, se realizaron remociones del suelo el 13 de abril, 3 de julio, 19 de agosto, 1 de septiembre y 15 de octubre, 10 de noviembre, 13 de diciembre y 1 de enero (2016/17) para (i) y el 23 de agosto, 24 de octubre, 20 de diciembre, 16 de enero y 28 de febrero (2017/18) en el caso de (ii).

3.2.3. Condiciones de post-maduración

Los procedimientos realizados para la post-maduración de las semillas bajo condiciones de laboratorio y para el entierro de las semillas a campo han sido detallados en el Capítulo 2 (Ver materiales y métodos). Brevemente, semillas recién cosechadas fueron enterradas a 5 cm de profundidad (i) en macetas que contenían un sustrato húmedo o seco (post-maduración en cámaras a la temperatura indicada en cada ensayo) o (ii) en el suelo a campo (ensayo de emergencia a campo). En semillas estratificadas, la humedad del sustrato se mantuvo siguiendo la misma metodología descrita en el Capítulo 2. En todos los experimentos, se registró la temperatura y la humedad en forma horaria a la profundidad indicada (DAT-10, Dataloggers de temperatura y humedad, China y Temperature-Logger METEO4, SCH-10, Cavadevices.com, Argentina).

3.2.4. Pruebas de germinación y emergencia

Estas pruebas fueron descriptas en detalle en el capítulo 2 (Ver materiales y métodos). Para las pruebas de germinación (E1 y E2) se colocaron 45-55 semillas en placas sobre discos de papel humedecidos con diferentes medios de incubación (agua destilada, FLU 100 μmol , FLU 100 μmol +ABA 10 μmol , FLU 100 μmol +ABA 50 μmol , GA₃ 10 μmol y GA₃100 μmol). Luego, las semillas fueron expuestas a un pulso de luz R de 15 min (Faccini y Vitta 2005) o 30 min cuando se evaluó la respuesta de las semillas a la luz (~20 °C). Aquellas placas destinadas al tratamiento de oscuridad fueron primero envueltas con nylon negro y luego expuestas 30 min a la luz R. Semillas recién

cosechadas o almacenadas en seco fueron primero incubadas en agua destilada durante 24 h y luego expuestas al pulso de luz.

La germinación se registró diariamente, excepto cuando se analizó la respuesta de las semillas a la luz, en cuyo se registró a los 15 d de incubación. Las perforaciones de cubiertas y el aislamiento de embriones se realizaron utilizando una aguja muy fina y lupa. Siempre que se utilizaron soluciones con ABA, estas tenían a su vez fluridone (FLU 100 μmol ; Pestanal®, estándar analítico, SIGMA-ALDRICH) para evitar la síntesis de *nov*o de ABA durante la incubación. Las soluciones de ABA (Sigma-Aldrich, USA) se prepararon disolviendo el compuesto en 1 mol de L^{-1} NaOH y las de GA₃ (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO) fueron preparadas disolviendo con unas gotas de EtOH (ambas de acuerdo con "Solution preparation" de Sigma-Aldrich). Al finalizar los experimentos, la viabilidad de las semillas remanentes se evaluó incubando semillas con cubiertas perforadas a 35 °C ($97,17 \pm 1,81\%$). La temperatura de las incubadoras fue registrada por hora (DAT-10, registradores de datos de temperatura y humedad, China).

Para evaluar la emergencia a campo en E3, grupos de bolsas fueron exhumadas (4 por tratamiento), y las semillas (700 por bolsa) fueron dispuestas en placas con agua destilada, expuestas a la radiación solar durante 5 min, y dispersadas dentro de un área delimitada por cilindros de PVC y cubiertas con tierra (~1,5 cm de profundidad). Los cilindros fueron regados y desmalezados manualmente a diario. La emergencia se registró cada día durante un mes. En la extracción de septiembre, la viabilidad de las semillas fue corroborada mediante pruebas de germinación de semillas con cubiertas perforadas a 35 °C, utilizando bolsas adicionales dispuestas para tal fin (germinación: $96,89 \pm 2,67\%$). Se registró temperatura y humedad del suelo a 1,5 cm de profundidad (Temperature-Logger METEO4, SCH-10, Cavadevices.com, Argentina).

3.2.5. Estructura de la semilla

Para evaluar posibles efectos del ambiente materno sobre la estructura de las cubiertas, grupos de semillas obtenidas de (i) plantas sembradas a fines de invierno, mediados de primavera e inicios de verano (2015/16) y (ii) plantas expuestas a fotoperíodo natural corto y extendido +4 h (2018) fueron almacenadas en FAA a cosecha. Luego, tres porciones de la parte central de diferentes semillas fueron incluidas en parafina y cortadas en serie a 10-12 μm con un microtomo rotativo tipo Minot. Para observar la estructura de la semilla, las secciones se tiñeron con safranina de color verde rápido y se montaron en bálsamo de Canadá (Johansen 1940). Las secciones se fotografiaron con un microscopio óptico ZeissAxioplan (Oberkochen, Alemania) y se analizaron con el software ZeissAxioCamERc 5s (Jena, Alemania).

3.2.6. Desarrollo de modelos

Los parámetros que caracterizan el rango térmico permisivo para la germinación ($T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$ y sus desvíos estándar) fueron estimados para semillas obtenidas de todas las fechas de siembra y para las distintas condiciones de post-maduración. El criterio utilizado para la selección de estos parámetros fue minimizar el RCME entre la germinación simulada y la obtenida experimentalmente bajo un rango de temperaturas constantes (10-35 °C; sub-óptimas según Faccini y Vitta 2005). Una mayor descripción de la metodología aplicada figura en el Capítulo 2 (Ver materiales y métodos).

3.3. Resultados

3.3.1. Condiciones ambientales durante el crecimiento de las plantas y producción de semillas por planta

El relativamente extenso período transcurrido entre la primera y la última siembra (en 2015/16, 157 d) determinó que las plantas experimentaran una variedad de condiciones ambientales durante su ciclo (Cuadros 3.1 y S3.1). En particular, durante la

etapa reproductiva de las plantas, atrasos en la fecha de siembra determinaron una disminución de la temperatura media diaria (de $23,1\pm3,3$ a $16,1\pm4,6$ °C), del fotoperíodo promedio (de 14,6 a 12,1 h) y de la radiación solar media diaria (de $18,1\pm6,4$ a $11,6\pm5,2$ MJ m⁻²).

Cuadro 3. 1. Valores promedio (\pm DE) de variables ambientales registradas durante el ciclo total, etapas vegetativa y reproductiva para plantas sembradas en diferentes fechas.

Fecha de siembra	Período	Temperatura media diaria (°C)	Temperatura mínima media diaria (°C)	Temperatura máxima media diaria (°C)	Fotoperíodo medio (h)	Radiación media diaria (MJ m ⁻²)
Fines de invierno	Total	20,8 (4,7)	16,1(4,8)	25,7 (5,3)	14,3	18,3(5,5)
	Vegetativo	16,1 (3,4)	11,7(3,8)	20,6 (4,1)	13,7	17,1(1,2)
	Reproductivo	23,1 (3,3)	18,3(3,7)	28,2(3,5)	14,6	18,1(6,4)
Mediados de primavera	Total	22,1(4,1)	17,6(4,0)	26,9(4,7)	14,1	18,8(6,4)
	Vegetativo	22,5(3,3)	17,7(3,5)	27,4(3,6)	15,3	21,7(5,8)
	Reproductivo	22,0(4,3)	17,7(4,2)	26,8(5,1)	13,7	17,4(6,9)
Finales de primavera	Total	21,8(4,7)	17,4(4,7)	26,6(5,3)	13,8	19,0(7,1)
	Vegetativo	24,7(2,1)	20,1(2,6)	29,7(2,5)	15,4	24,3(2,0)
	Reproductivo	20,9(4,9)	17,0(4,7)	25,7(5,6)	13,3	17,4(6,9)
Verano temprano	Total	19,8(5,5)	15,6(5,3)	25,1(6,2)	13,1	15,4(7,4)
	Vegetativo	25,6(2,2)	21,0(2,5)	30,9(2,6)	14,7	22,5(0,5)
	Reproductivo	18,2(4,9)	14,0(4,9)	23,2(5,7)	12,6	13,5(7,1)
Mediados de verano	Total	17,7(5,1)	13,5 (5,0)	22,1(5,7)	12,5	13,5(7,1)
	Vegetativo	22,6(3,2)	17,7 (3,4)	27,3(3,7)	13,8	19,4(3,9)
	Reproductivo	16,1(4,6)	12,2(4,5)	20,2(4,9)	12,1	11,6(5,2)

Los desvíos estándar de los valores diarios se muestran entre paréntesis.

El atraso en la siembra acortó significativamente la duración total de los ciclos (Fig. S3.1), el tiempo transcurrido desde la siembra hasta el inicio de la etapa reproductiva ($66\pm3,4$ d para plantas sembradas a fines de invierno vs $21\pm2,9$ d para aquellas sembradas a mediados de verano; Fig. S3.1) y la duración de la etapa reproductiva ($133\pm3,4$ d a $75\pm2,9$ d para plantas sembradas a fines de invierno y mediados de verano, respectivamente; Fig. S3.1). Esto determinó variaciones en la altura de las plantas y la cantidad de semillas producidas por planta (Fig. 3.2 y S3.2), la cual disminuyó

significativamente (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$) con el atraso en la fecha de siembra.

No se observaron, en cambio, variaciones significativas en el peso de las semillas.

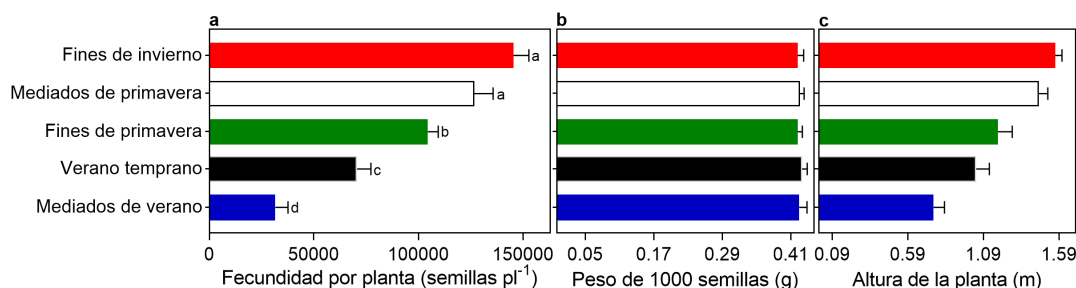


Figura 3. 2. (a) Fecundidad por planta, (b) Peso medio de 1000 semillas y (c) Altura media de las plantas para cada fecha de siembra de *A. hybridus* (2015/16). Las columnas representan la media ($n = 16$) y las barras horizontales, el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$) según la prueba de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

3.3.2. Efecto de la fecha de siembra sobre el nivel de dormición de las semillas

Las semillas obtenidas de plantas sembradas en diferentes fechas mostraron diferencias significativas en los porcentajes de germinación (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$; Fig. 3.3, 3.4 y S3.3). En general, las semillas obtenidas de plantas sembradas a inicios y mediados de verano germinaron más que aquellas provenientes de plantas sembradas en fechas anteriores. Por ejemplo, a cosecha, mientras la germinación a 30 °C fue de $2,2 \pm 3,4\%$ en semillas provenientes de la siembra de fines de invierno, esta fue $43,2 \pm 3,8\%$ para aquellas obtenidas de la siembra de inicios de verano. Las diferencias fueron mayores a temperaturas de incubación superiores a los 25 °C. De hecho, a temperaturas de incubación menores a 20 °C, la germinación fue prácticamente nula.

En líneas generales, la alternancia térmica no promovió fuertemente la germinación respecto de la observada cuando las semillas fueron incubadas a la temperatura promedio y la temperatura máxima de cada régimen de alternancia (Fig. S3.4). Sin embargo, se observaron ciertas variaciones en la respuesta de las semillas a esta condición de incubación. Por ejemplo, las semillas obtenidas de plantas sembradas a fines de invierno y fines primavera germinaron más a 20/30 °C (Fig. S3.4) que a 25 °C

y 30 °C (Fig. S3.3) luego de 25 d de estratificación. Asimismo, se detectaron ciertas variaciones en la respuesta de las semillas a la alternancia térmica en función de la condición de post-maduración. Por ejemplo, aquellas semillas provenientes de la siembra de inicios de verano germinaron más a 10/24 °C cuando fueron almacenadas en seco a 25 °C (Fig. S3.4b) que cuando se estratificaron a 4,8 °C (Fig. S3.4a). El patrón contrario se detectó en aquellas semillas obtenidas de plantas que fueron sembradas a fines de invierno.

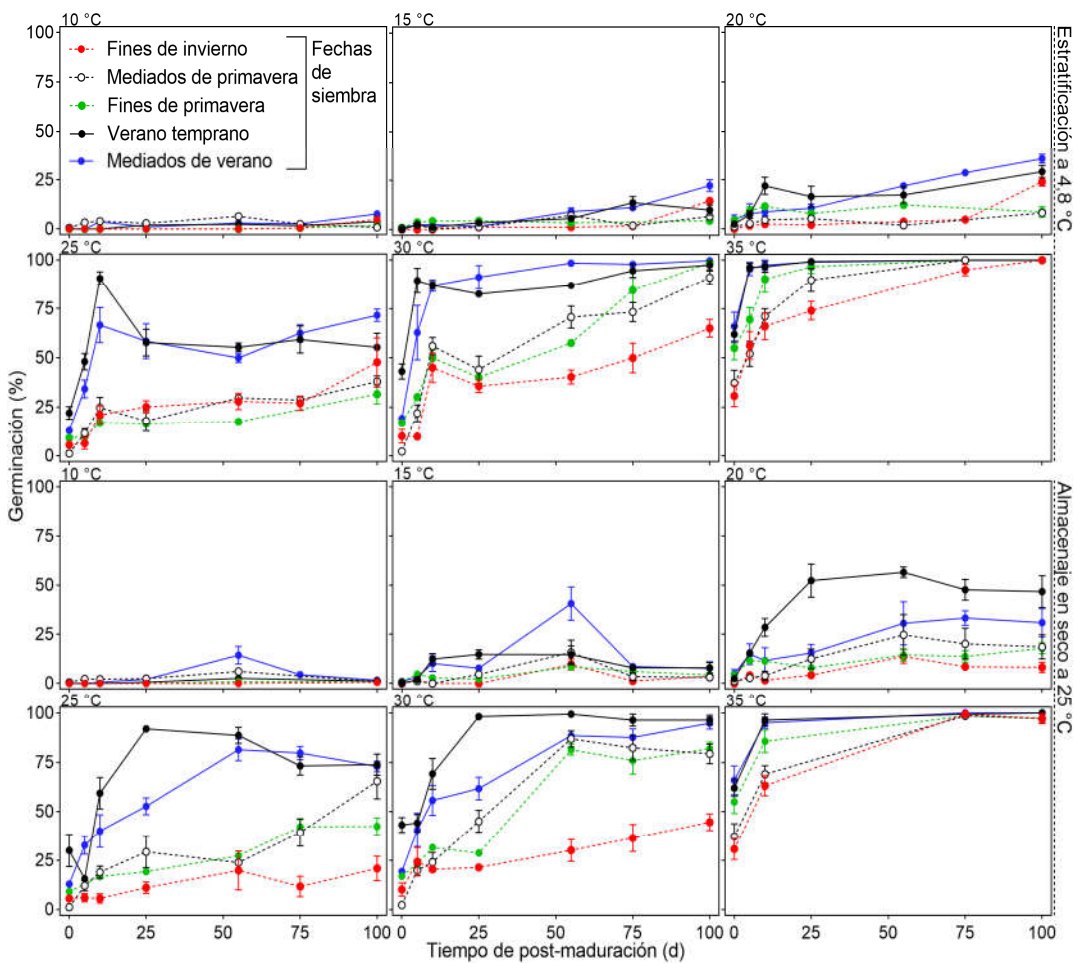


Figura 3. 3. Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* luego de 0, 5, 10, 25, 60, 75 y 100 d de estratificación a 4,8 °C (paneles superiores) o almacenaje en seco a 25 °C (paneles inferiores). Las temperaturas de incubación se indican sobre cada panel (10, 15, 20, 25, 30 y 35 °C). Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de invierno, mediados de primavera, fines de primavera, inicios y mediados de verano (2015/16). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

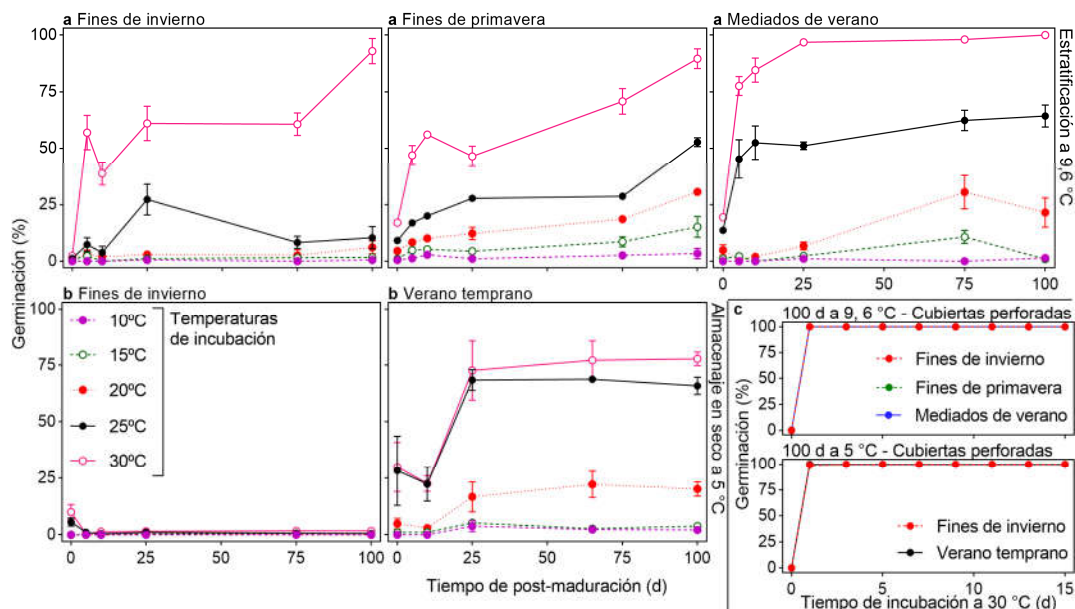


Figura 3. 4. Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* incubadas a 10, 15, 20, 25 y 30 °C estratificadas a 9,6 °C (a) o almacenadas en seco a 5 °C (b) durante 0, 5, 10, 25, 60, 75 y 100 d. En (a) las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de invierno, fines de primavera y mediados de verano. En (b) las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de invierno e inicios de verano. (c): Germinación acumulada (%) durante 15 d de incubación a 30 °C de semillas de *A. hybridus* con cubiertas perforadas luego de 100 d de estratificación a 9,6 °C o almacenaje en seco a 5 °C. Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

La salida de la dormición ocurrió bajo un amplio rango de condiciones de post-maduración, tanto en semillas estratificadas a 4,8, 9,6 y 15,3 °C, como en aquellas almacenadas en seco a 25 °C y, en algunos casos, a 5 °C en seco (Fig. 3.3, 3.4 y S3.3). Sin embargo, se detectaron algunas diferencias. Por ejemplo, a 20 y 25 °C, semillas provenientes de siembras más tardías mostraron un incremento más rápido de la germinación cuando se almacenaron en seco a 25 °C que cuando fueron estratificadas a 4,8 °C (Fig. 3.3). Mayores variaciones se observaron cuando las semillas fueron almacenadas en seco a 5 °C (Fig. 3.4 y S3.3), donde la salida de la dormición sólo se detectó en aquellas semillas que fueron obtenidas de siembras más tardías.

3.3.3. Efecto de la fecha de siembra sobre la respuesta de las semillas a la luz

Variaciones en la fecha de siembra determinaron cambios en los requerimientos de luz de las semillas para terminar la dormición y germinar (Fig. 3.5). Las semillas

obtenidas de la siembra de fines de invierno (estratificadas a 4,8 °C) no germinaron en oscuridad bajo ninguna de las temperaturas de incubación evaluadas (25 °C y 20/30 °C). En cambio, aquellas semillas obtenidas de plantas sembradas a inicios de verano mostraron un progresivo incremento en los valores de germinación alcanzados en oscuridad a medida que trascurrió el tiempo de estratificación (hasta alcanzar un 50% de germinación bajo condiciones de oscuridad a los 100 d de estratificación). La exposición de las semillas a la luz determinó mayores valores de germinación que los observados en oscuridad, en un nivel que no sólo dependió de la fecha de siembra (fue mayor para semillas de una siembra más tardía), sino también del régimen de incubación (25 vs 20/30 °C). La germinación en oscuridad no difirió de la observada luego de un pulso de RL (datos no publicados). Por ejemplo, en semillas obtenidas de la siembra de inicios de verano, la germinación alcanzada luego de un pulso de luz R difirió de aquella observada bajo condiciones de oscuridad constante menos a 20/30 °C que a 25 °C (ver, en particular, los valores de germinación registrados a los 5, 25 y 75 d de estratificación en la figura 3.5). Cuando las semillas provinieron de la siembra de invierno, se observó la respuesta contraria.

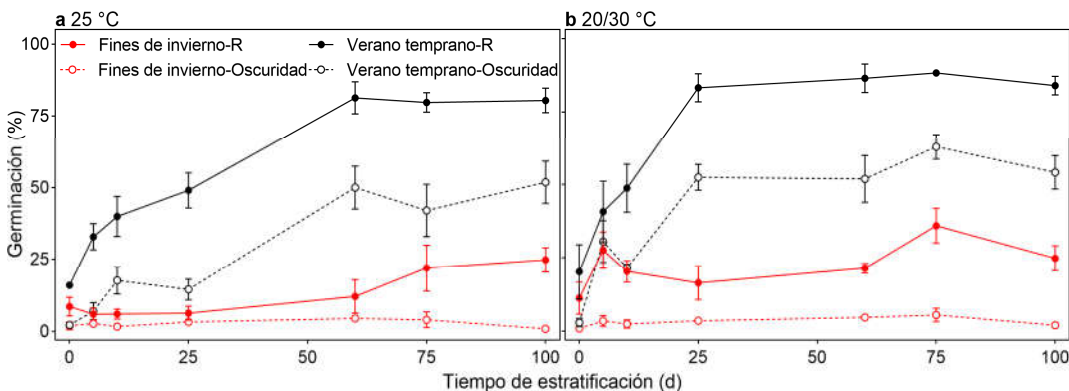


Figura 3. 5. Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* a (a) 25 ° y (b) 20/30 °C estratificadas a 4,8 °C durante 0, 5, 10, 25, 60, 75 y 100 d. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de invierno e inicios de verano (2015/16). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

3.3.4. El rol de las cubiertas y el efecto del fotoperíodo

Entre los factores que varían con la fecha de siembra, existen evidencias que indican que la temperatura, el fotoperíodo y la radiación alteran el nivel de dormición en semillas de varias especies. Con el objetivo de detectar las variables ambientales asociadas al efecto observado de la fecha de siembra sobre el nivel de dormición de las semillas, se analizaron las correlaciones entre el tiempo de estratificación (en días) requerido para la germinación del 50% de las semillas y el valor medio de los factores ambientales medidos durante el ciclo de vida de las plantas, y las etapas vegetativa y reproductiva (Cuadro 3.1). Las correlaciones sólo fueron significativas (Cuadro S3.2) para el fotoperíodo medio durante la etapa reproductiva. Por esta razón, se estudió la influencia particular del fotoperíodo materno sobre el nivel de dormición de las semillas (Fig. 3.1).

Un fotoperíodo materno más largo determinó un mayor nivel de dormición de las semillas (Fig. 3.6 y S3.5). Este efecto fue observado desde cosecha (Fig. 3.6 y S3.5), cuando, por ejemplo, la germinación a 35 °C fue de $76,2 \pm 2,0\%$ para semillas maduras bajo fotoperíodo natural corto y $45,3 \pm 6,2$ y $27,4 \pm 6,4\%$ para aquellas expuestas a un fotoperíodo extendido +1,5 y +4 h, respectivamente. Las variaciones en los porcentajes de germinación alcanzados fueron evidentes sólo a “altas” temperaturas de incubación (25-35 °C); de hecho, a menores temperaturas no se observó una germinación significativa. Estas diferencias persistieron durante la estratificación a 4,8 °C y el almacenaje en seco a 25 °C, incluso luego de transcurridos 400 d de almacenaje (Fig. S3.5).

Tanto en semillas obtenidas de distintas fechas de siembra, como en aquellas provenientes de plantas expuestas a diferentes fotoperíodos, la perforación de las cubiertas aumentó la germinación en comparación con la alcanzada por semillas con

cubiertas intactas (Fig. 3.4, 3.6 y 3.7). Similares resultados fueron obtenidos al incubar embriones aislados (Fig. S3.6). Esto ocurrió en semillas almacenadas bajo distintas condiciones (estratificadas a 4,8 y 9,6 °C y almacenadas en seco a 5 y 25 °C), en niveles que variaron notoriamente según la temperatura de incubación. A altas temperaturas de incubación (>25 °C), las semillas con cubiertas perforadas germinaron en porcentajes similares (~100%), independientemente del tratamiento materno (Fig. 3.6 y 3.7).

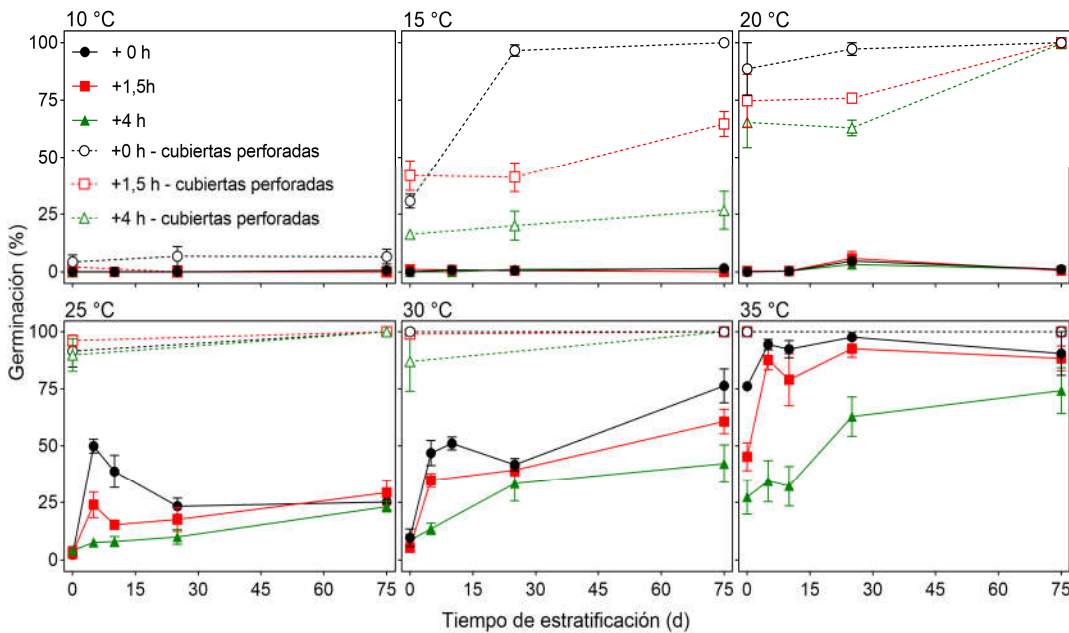


Figura 3. 6. Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* con cubiertas intactas (líneas llenas) y perforadas (líneas de puntos) a los 0, 5, 10, 25, 60 y 75 d de estratificación a 4,8 °C. Las temperaturas de incubación se indican sobre cada panel (10, 15, 20, 25, 30 y 35 °C). Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a mediados de verano y que fueron expuestas a fotoperíodo natural corto (+0 h) o a fotoperíodo extendido +1,5 y +4 h durante la etapa reproductiva (2018). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

A menores temperaturas (<25 °C), la germinación de semillas con cubiertas perforadas difirió según el tratamiento (e.g. a menor fotoperíodo, mayor germinación) y a mayor temperatura (20 °C vs 15 °C), la germinación fue mayor (Fig. 3.6). A 10 °C, no se detectaron variaciones sino hasta que transcurrieron 400 d de almacenaje a 25 °C, cuando semillas con cubiertas perforadas de plantas expuestas a distintos fotoperíodos germinaron un 100% (Fig. S3.6).

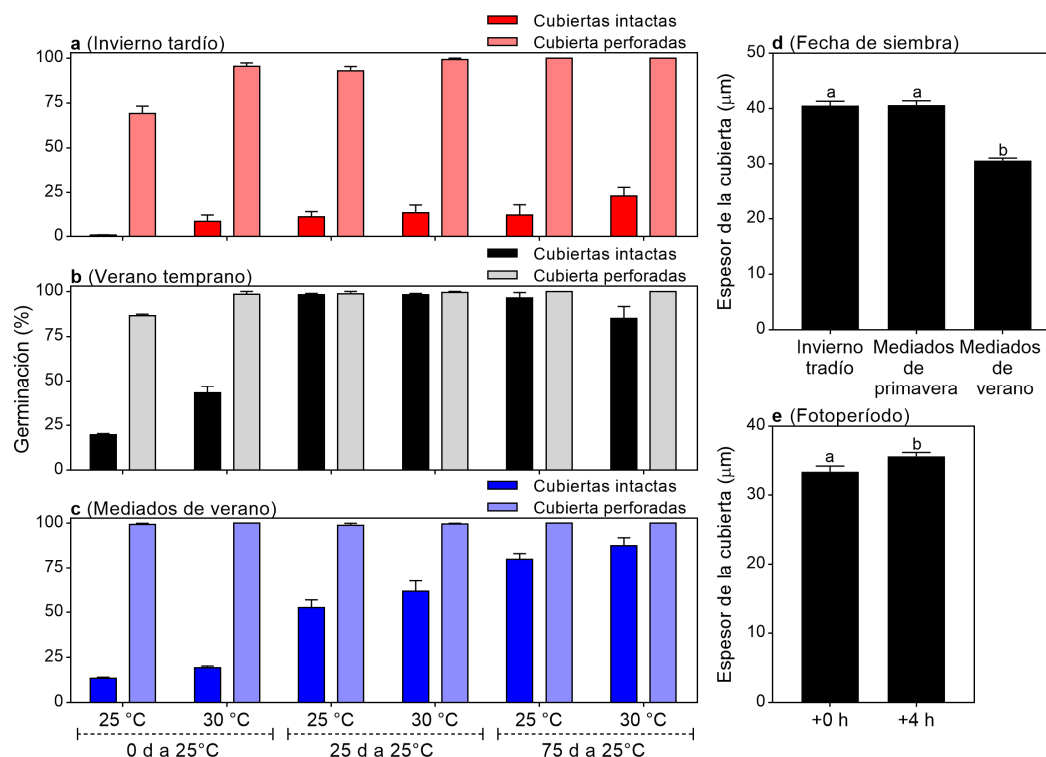


Figura 3. 7. Germinación (%) de semillas de *A. hybridus* con cubiertas intactas o perforadas luego de 0, 25 y 75 d de almacenaje a 25 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas (a) a fines de invierno, (b) inicios y (c) mediados de verano (2015/16). Las temperaturas de incubación figuran en el eje x (25 y 30 °C). En (d): Espesor de cubiertas seminales de semillas cosechadas de plantas sembradas a fines de invierno, mediados de primavera y mediados de verano. En (e): Espesor de cubiertas seminales de semillas cosechadas de plantas a fotoperíodos contrastantes a partir de floración (natural o corto vs extendido +4 h). Las columnas representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias (p<0,05) según la prueba de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

3.3.5. Respuesta de las semillas al agregado exógeno de hormonas

En general, la proporción en que varió la germinación por adición de GA₃ o ABA no difirió de manera importante entre tratamientos maternos. La adición de GA₃ determinó aumentos variables (<12%) de la germinación bajo distintas condiciones (a cosecha, en semillas incubadas a 30 °C, Fig. S3.7; en semillas estratificadas 75 d, con cubiertas perforadas e incubadas a 10 °C, Fig. S3.8). La adición de FLU no modificó significativamente la germinación de semillas con cubiertas perforadas a 15 °C a los 75 d de estratificación (Fig. S3.8) ni a 25, 30 y 35 °C luego de distintos intervalos de

estratificación y almacenaje en seco (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$; Fig. S3.9 y S3.10). En respuesta al ABA semillas con cubiertas perforadas mostraron una importante reducción en la germinación final bajo distintas condiciones (a los 75 d de estratificación, incubadas a 15 °C, Fig. S3.8; a los 25 d de estratificación a 25 y 35 °C de incubación, Fig. S3.9; a los 50 d de almacenaje en seco, incubadas a 30 °C, Fig. S3.10).

Para analizar si variaciones en el ambiente materno determinan cambios en la estructura de las semillas, se evaluó el espesor de las cubiertas de semillas obtenidas de diferentes fechas de siembra (fines de invierno, mediados de primavera y mediados de verano). El espesor de las cubiertas fue significativamente menor (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$) en semillas obtenidas de plantas sembradas a mediados de verano y expuestas a un menor fotoperíodo materno que en aquellas provenientes de plantas sembradas a fines de invierno y mediados de primavera o expuestas a un fotoperíodo más largo (Fig. 3.7 y S3.11).

3.3.6. Efecto de la fecha de siembra sobre los patrones temporales de emergencia a campo

Las semillas obtenidas de las siembras de fines de invierno e inicios de verano se enterraron en el suelo inmediatamente después de sus cosechas (Fig. 3.8): 24 de marzo (D1, inicios de otoño) y 21 de mayo (D2, fines de otoño), respectivamente. Contrariamente a las diferencias observadas en la germinación bajo condiciones controladas, la emergencia a campo no difirió significativamente entre tratamientos (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$; Fig. 3.8). La emergencia de las plántulas fue prácticamente nula hasta septiembre. Durante la primavera y el verano (i.e. pruebas de octubre a enero), la emergencia fue máxima y osciló alrededor del 25-35%. Aunque levemente, la emergencia tendió a disminuir a partir de la exhumación de diciembre. Este patrón general fue observado en un segundo año (Fig. S3.12).

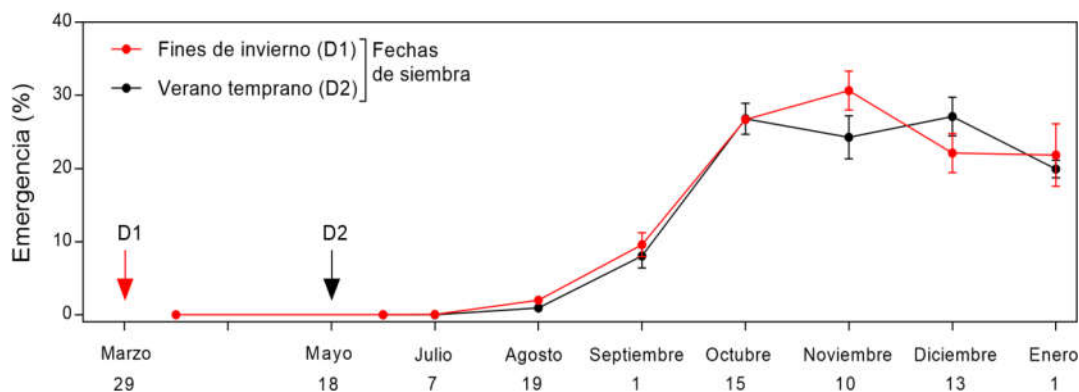


Figura 3. 8. Emergencia final (%) de plántulas de *A. hybridus* obtenida en 7 pruebas realizados a campo de julio a enero. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de invierno e inicios de verano (2015/16), enterradas en el suelo el 24 de marzo (D1, inicios de otoño) y el 21 de mayo (D2, mediados de otoño), respectivamente (como indican las flechas). Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar.

3.3.7. Cuantificación y simulación del efecto de la fecha de siembra sobre el nivel de dormición de las semillas

Los cambios en el nivel de dormición en semillas obtenidas de plantas sembradas en diferentes fechas durante dos estaciones de crecimiento pudieron ser cuantificados mediante la estimación de los parámetros poblacionales que permiten caracterizar el rango térmico permisivo para la germinación (i.e. las temperaturas límites y sus desvíos estándar; Fig. 3.9 y S3.13). También se estimaron los parámetros que permiten describir la dinámica de la germinación de las semillas (Cuadro S3. 3), para lo cual se determinó una T_b de 9,2 °C con datos de germinación obtenidos utilizando semillas con cubiertas perforadas (Fig. S3.14).

Para todas las semillas obtenidas de todas las fechas de siembra, los cambios en los límites térmicos para el 50% de la población ($T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$; Fig. 3.9 y S3.13) pudieron ser descriptos adecuadamente mediante el ajuste de funciones lineales en función del tiempo de post-maduración transcurrido desde cosecha (Cuadro S3.3). Los desvíos de T_l y T_s también pudieron ser modelados; en este caso, se ajustaron funciones cuadráticas negativas y positivas, respectivamente en función del tiempo de post-maduración (Fig. 3.9 y S3.13; Cuadro S3.3).

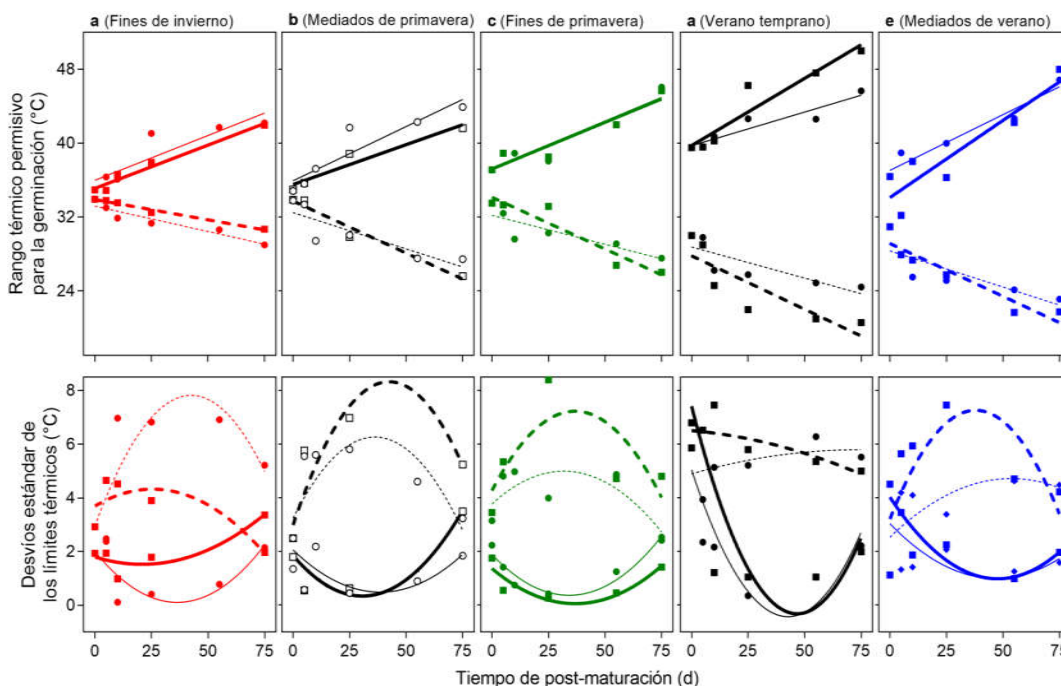


Figura 3. 9. Valores estimados de los límites medios poblacionales ($T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$) del rango térmico permisible para la germinación (paneles superiores) y desvíos estándar de los límites (paneles inferiores) para semillas de *A. hybridus* en función del tiempo de post-maturación. Las líneas finas y los círculos corresponden a los valores obtenidos para las semillas que se estratificaron a 4,8 °C; las líneas gruesas y los cuadrados se refieren al almacenaje a 25 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas en (a) fines de invierno, (b) mediados de primavera, (c) fines de primavera, (d) inicios de verano y (e) mediados de verano (2015/16). Las ecuaciones que describen la relación entre los parámetros con el tiempo de post-maturación y los R^2 se indican en el Cuadro S3.3. Los análisis de regresión lineal y pruebas de pendiente (con un nivel de significancia del 5%) se realizaron con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

Los modelos obtenidos mostraron que la ampliación del rango térmico permisible para la germinación de las semillas fue mayor a medida que se atrasó la fecha de siembra (Fig. 3.9 y S3.13). Esto se produjo como consecuencia de incrementos progresivos de la $T_{s(50)}$ y de reducciones de la $T_{l(50)}$. Dentro de una misma fecha de siembra, las diferencias entre pendientes obtenidas para semillas estratificadas a 4,8, 9,6 o 15,3 °C o almacenadas en seco a 25 °C no fueron significativas. Entre fechas, estas pendientes difirieron, en algunos casos, para semillas que fueron almacenadas en seco a 25 °C, pero no para aquellas estratificadas a 4,8, 9,6 o 15,3 °C, en cuyo caso se detectaron variaciones significativas de la $T_{l(50)}$ y la $T_{s(50)}$ a cosecha. Los valores de $T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$ fueron más altos y más bajos, respectivamente, para las semillas de fines

de invierno, mediados de primavera y finales de primavera en comparación con las de inicios de verano y mediados de verano ($P < 0,00001$). En base a estas consideraciones se desarrolló un único modelo para cada parámetro ($T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$) con los datos de germinación obtenidos bajo las distintas temperaturas de estratificación, utilizando las semillas provenientes de todas las fechas de siembra realizadas en las dos estaciones de crecimiento (Fig. S3.13a). Sólo se utilizaron los datos obtenidos bajo condiciones de estratificación ya que estas se asemejan a las condiciones naturales que experimentan las semillas de esta especie durante el invierno (estación durante la cual disminuye su nivel de dormición), debido a su momento de dispersión (otoño). En cuanto a los desvíos, mientras el correspondiente al límite superior pudo ser modelado, el desvío del límite inferior no mostró un patrón de cambio claro y se promedió (Fig. S3.13b).

Según los modelos obtenidos (Fig. S3.13), las semillas sólo diferirían en el nivel de dormición que presentan cuando ingresan al banco del suelo (i.e. a la dispersión), mientras que la tasa de salida de la dormición sería independiente del ambiente materno. Para evidenciar esto y poner a prueba los modelos desarrollados, se realizaron simulaciones de la dinámica de germinación para las semillas obtenidas de las siembras de fines de invierno y de mediados de verano (enterradas a cosecha en D1 y D2, respectivamente; Fig. 3.10). Se consideraron una serie de restricciones. Por un lado, se permitió descender y ascender los valores de $T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$ hasta 20 y 40 °C, respectivamente (dado que las semillas prácticamente no germinaron a 20 °C en ninguna prueba y porque las temperaturas medias superiores a 40 °C son infrecuentes bajo condiciones de campo). En relación al desvío del límite superior, el modelo se aplicó hasta que se alcanzó el valor máximo de $T_{s(50)}$.

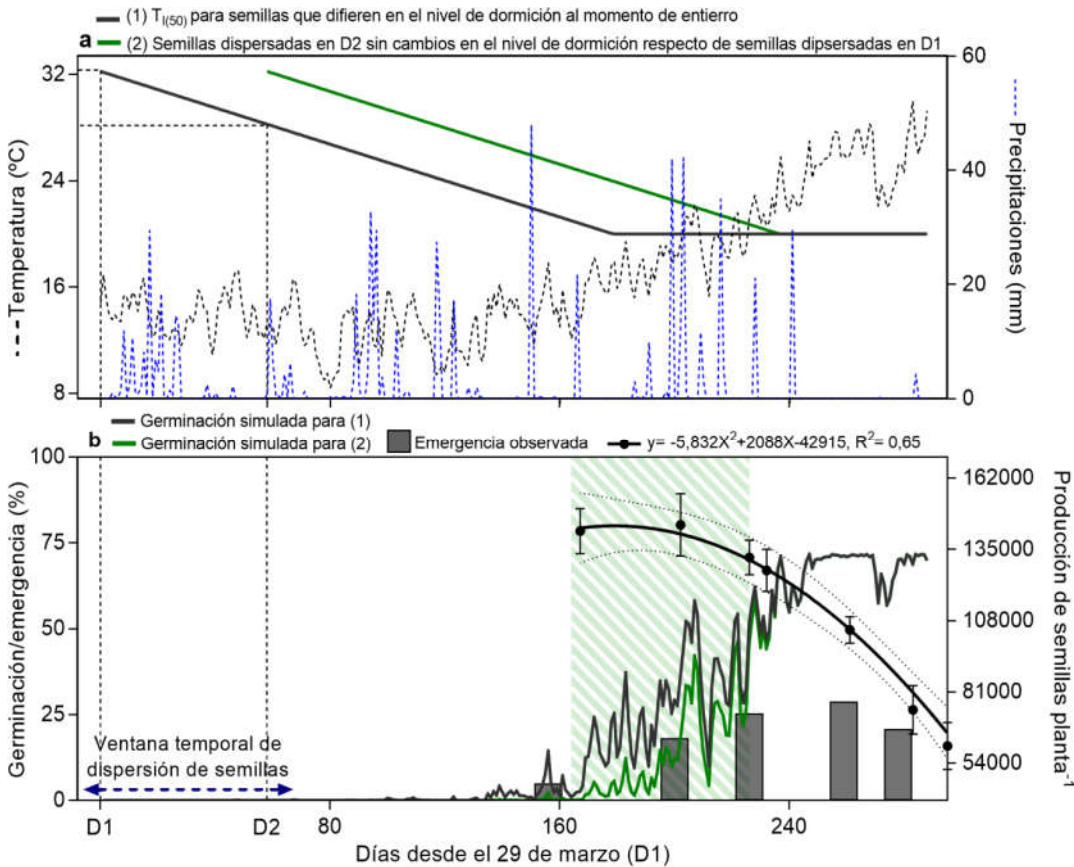


Figura 3. 10. (a) Evolución de la $T_{l(50)}$ (líneas continuas) en función del tiempo desde D1 para semillas dispersadas en distintos momentos (D1 y D2) debido a cambios en la fecha de siembra de las plantas (Fig. S3.13); precipitaciones (línea punteada azul); y temperatura media del suelo registrada en el experimento de campo (línea punteada negra). (b) Emergencia promedio registrada a campo (columnas, estimada a partir de la figura 3.8), germinación simulada (líneas continuas) y evolución de la producción de semillas por planta \pm IC (95%) en función del tiempo desde D1. La producción de semillas por planta se modeló utilizando datos de experimentos de campo (Fig. 3.2 y S3.2) \pm IC (95%). En negro: $T_{l(50)}$ y germinación simulada para semillas que fueron dispersadas en distintos momentos con distintos niveles de dormición. En verde: $T_{l(50)}$ y germinación simulada para un escenario alternativo, según el cual las semillas dispersadas más tarde presentan el mismo nivel de dormición que las dispersadas antes. El área sombreada/rayada verde indica el período donde se detectaron variaciones en la germinación simulada para cada escenario.

La simulación desarrollada estimó valores de $T_{l(50)}$ iniciales de 32,23 y 28,25°C para semillas de las siembras de fines de invierno (dispersadas en D1) y mediados de verano (dispersadas en D2), respectivamente; y valores de $T_{s(50)}$ de 37,67 °C para semillas dispersadas en D1 y 40 °C para aquellas dispersadas en D2 (Fig. 3.10). La germinación simulada imitó el patrón temporal de emergencia observado a campo, aunque sobreestimó sus niveles, fundamentalmente en las dos últimas exhumaciones de

diciembre y enero (Fig. 3.10). Para analizar el efecto del ambiente materno sobre la dinámica de germinación, se realizó una simulación considerando un escenario alternativo, en el cual semillas dispersadas más tarde ingresarán al banco del suelo con el mismo nivel de dormición que semillas dispersadas temprano (Fig. 3.10). Este escenario determinó un atraso en la emergencia y una importante reducción de la germinación en relación a la simulada en semillas que presentaron variaciones en el nivel de dormición ante cambios en la fecha de siembra. Según la simulación, este retraso y reducción de la germinación determinaría una disminución de la producción de semillas durante la etapa reproductiva de la población en relación a una población con una ventana temporal de emergencia anterior (Fig. 3.10b).

3.4. Discusión

Cada vez más evidencias indican que el ambiente materno representa un fenómeno que contribuye a la habilidad de las plantas para germinar en el contexto correcto. Los resultados obtenidos en este trabajo permiten dimensionar, no sólo el impacto del ambiente materno sobre la dormición en semillas de *A. hybridus* (Fig. 3.3, 3.4, S3.3 y S3.4) y su emergencia a campo (Fig. 3.8 y S3.12), sino también aportar evidencias acerca del rol ecológico de este efecto (Fig. 3.10). A su vez, el trabajo presentado en el presente capítulo muestra la influencia del ambiente materno sobre la contribución relativa de los componentes de cubierta y embrionarios que imponen dormición en semillas de *A. hybridus*. Los datos aportados en este trabajo adquieren un grado de sustentación mayor al presentar aspectos en común con aquellos obtenidos en el Capítulo 2 de la presente tesis, lo cual sugiere la existencia de efectos comunes en semillas de distintas especies.

Las semillas de *A. hybridus* obtenidas de plantas sembradas en diferentes fechas (fines de invierno vs inicios de verano; fines de primavera vs mediados de verano) y que

fueron dispersadas en diferentes momentos (inicios vs fines de otoño; mediados vs fines de otoño) mostraron una sincronización temporal de sus patrones de emergencia a campo (Fig. 3.8 y S3.12), en coincidencia con lo detectado en *P. aviculare* en el capítulo anterior y lo sugerido por Burghardt et al. (2016) para *A. thaliana*. Esto sugiere de manera consistente la existencia de efectos comunes, no sólo en semillas de diferentes especies, sino en especies con distintas estrategias de establecimiento. En general, la emergencia observada fue prácticamente nula hasta agosto, aumentó a partir de septiembre, fue máxima entre octubre y noviembre/diciembre y luego tendió a disminuir más entrado el verano (enero/febrero). En ningún caso superó el 35-40%. Independientemente del tratamiento materno, los mayores niveles de germinación bajo condiciones de laboratorio se observaron a altas temperaturas de incubación ($>25^{\circ}\text{C}$, principalmente a $30\text{-}35^{\circ}\text{C}$). Por el contrario, a menores temperaturas ($<20^{\circ}\text{C}$), la germinación fue reducida y, a menudo, nula (Fig. 3.3, 3.4, S3.3 y S3.4). Este comportamiento germinativo a bajas y altas temperaturas de incubación ha sido previamente reportado para esta especie y otras amarantáceas (Schonbeck y Egley 1980; Weaver y McWilliams 1980; Kruk 1992; Ghorbani et al. 1999; Faccini y Vitta 2005; Cristaudo et al. 2007); y podría explicar, al menos en parte, tanto el patrón temporal, como los porcentajes de emergencia observados a campo. Esto es evidenciado por los modelos desarrollados y las simulaciones realizadas en este trabajo (Fig. 3.9 y 3.10), que reflejan que este comportamiento a altas y bajas temperaturas determina una temperatura límite inferior más elevada que la observada en otras especies primavero estivales con ventanas de emergencia más tempranas, como por ejemplo *P. aviculare* (Kruk 1992; Batlla y Benech-Arnold 2003; Costea y Tardif 2003).

La sincronización de los patrones temporales de emergencia observada a campo (Fig. 3.8 y S3.12) ocurrió a pesar de las importantes diferencias detectadas en la germinación

bajo condiciones de laboratorio, donde las semillas provenientes de plantas sembradas más tarde germinaron más que aquellas obtenidas de siembras más tempranas (Fig. 3.4, 3.5 y S3.4). Las variaciones en el nivel de dormición de las semillas se detectaron desde cosecha (fundamentalmente a altas temperaturas de incubación), y se mantuvieron durante el almacenaje de las semillas bajo distintas condiciones (estratificación a 4,8, 9,6 y 15,3 °C y almacenaje en seco a 5 y 25 °C). A su vez, los resultados obtenidos en el presente trabajo mostraron que cambios en la fecha de siembra generaron variaciones en los requerimientos de luz para germinar de las semillas (Fig. 3.5), ya que semillas obtenidas de un ambiente de maduración más tardío mostraron una mayor capacidad de germinar en oscuridad que aquellas provenientes de un ambiente de maduración más temprano. Esto coincide con observaciones realizadas por Faccini y Vitta (2005), quienes encontraron que semillas de *A. hybridus* dispersadas en diferentes momentos (pero enterradas en el suelo en una misma fecha) mostraban diferentes patrones: más tardía la dispersión, mayor la germinación en oscuridad. Sin embargo, en el presente trabajo, estas variaciones en el comportamiento germinativo de las semillas no determinarían cambios en la dinámica de emergencia a campo (Fig. 3.8).

Para la interpretación conjunta de los resultados de campo y laboratorio se desarrollaron modelos y simulaciones (Fig. 3.9, 3.10 y S3.13). Los cambios en el nivel de dormición de las semillas de *A. hybridus* obtenidas de distintas fechas de siembra se tradujeron en variaciones en la $T_{l(50)}$ y la $T_{s(50)}$ del rango térmico permisivo para la germinación. En semillas estratificadas (condiciones que se asemejan al ambiente que estas exploran luego de su dispersión) no se detectaron diferencias significativas entre las pendientes de las regresiones obtenidas dentro o entre fechas de siembra. Por ello, se desarrolló un modelo único para cada parámetro térmico para todas las semillas estratificados bajo todas las temperaturas exploradas (Fig. S3.13). Estos modelos

sugieren una misma evolución del rango térmico para las distintas cohortes de semillas producidos y dispersados en diferentes momentos (Fig. 3.10) en función del tiempo desde la dispersión de las semillas. El efecto de la fecha de siembra según estos modelos consistiría, entonces, en determinar variaciones en el nivel de dormición que presentan las semillas al momento de la dispersión. Estas variaciones permitirían a cohortes de semillas maduras y dispersadas en diferentes momentos sincronizar la salida de la dormición.

Las simulaciones realizadas permitieron verificar que la sincronización temporal de la emergencia observada a campo fue el resultado directo del efecto del ambiente materno sobre el nivel de dormición primaria de las semillas (Fig. 3.10), como han sugerido previamente Burghardt et al. (2016) y Edwards et al. (2017). Esto resultó particularmente evidente cuando se simuló un escenario alternativo según el cual semillas dispersadas más tarde no presentan un menor nivel de dormición que aquellas dispersadas más temprano (Fig. 3.10). Bajo este escenario se detectó no sólo un atraso, sino también una importante reducción de la germinación respecto de la simulada considerando variaciones en el nivel de dormición primaria de las semillas al momento de su dispersión (Fig. 3.10b). Para cuantificar estas diferencias, se calculó la cantidad total de semillas germinadas de acuerdo a cada situación a través de la estimación del área bajo las curvas simuladas. Según este cálculo, si semillas maduras y dispersadas más tarde presentaran el mismo nivel de dormición que aquellas dispersadas más temprano verían reducida su germinación y eventual emergencia en aproximadamente un 18%. Esta reducción coincidiría con aquel período que optimiza la tasa de crecimiento y producción de semillas de los nuevos individuos (ver curva de producción de semillas modelada en la figura 3.10b), lo cual evidencia la relevancia ecológica del

efecto del ambiente materno sobre el nivel de dormición de las semillas y la capacidad reproductiva de las plantas.

Aunque las simulaciones permitieron explicar la dinámica temporal de emergencia, estas sobreestimaron los niveles de emergencia observados a campo (Fig. 3.8), principalmente en las pruebas de los meses de diciembre y enero (Fig. 3.10). Esto pudo deberse, por un lado, a una probable inducción en dormición secundaria de una fracción de la población por efecto de la deshidratación que sufrieron las semillas enterradas en el campo durante los meses de noviembre, diciembre y enero, donde no se registraron lluvias (Fig. 3.10a), ya que se ha reportado en semillas de varias especies que períodos prolongados de sequía en el suelo promueven la inducción en dormición secundaria (Khan y Karssen 1980; Auge et al. 2015; Edwards et al. 2016). Asimismo, se ha encontrado en algunas amarantáceas como *A. caudatus* y *A. palmeri* que las altas temperaturas como las que experimentan los bancos de semillas durante el verano promueven la inducción en dormición secundaria (Kepczynski y Bihun 2002; Jha et al. 2010b). Sin embargo, se desconoce hasta el momento si la deshidratación o las altas temperaturas promueven la inducción en dormición secundaria en semillas de *A. hybridus*. Por otro lado, la propia dinámica de salida de la dormición primaria de las semillas enterradas en el campo pudo verse afectada por factores no contemplados en el desarrollo de los modelos presentados en este trabajo, así como por posibles interacciones entre las condiciones de temperatura y humedad a las que fueron expuestas las semillas en el suelo. La existencia de tales interacciones es, de hecho, sugerida por las variaciones observadas entre la germinación de semillas estratificadas a 4,8 °C (Fig. 3.3) y la alcanzada en semillas almacenadas en seco a 5 °C (Fig. 3.4). Contemplar el efecto de otros factores (como la disponibilidad hídrica) y sus posibles interacciones podría, eventualmente, mejorar la capacidad predictiva de la emergencia

de esta especie, base para su control en los sistemas productivos (Batlla y Benech-Arnold 2007).

El efecto de la fecha de siembra sobre la dormición en semillas de *A. hybridus* se correlacionó positivamente con el fotoperíodo (Fig. 3.6 y S3.5), un factor que, como se ha señalado en el capítulo anterior, brinda información precisa acerca del momento del año (Anderson 2016). Efectos similares han sido previamente detectados en semillas de amarantáceas. Por ejemplo, Kigel et al. (1977) y, más tarde, Chadoeuf-Hannel y Barralis (1982) encontraron que semillas de *A. retroflexus* obtenidas de plantas cultivadas en días cortos (más tarde en la temporada de crecimiento) germinaban más que aquellas provenientes de plantas cultivadas en días largos (más temprano en la temporada). Sin embargo, futuros experimentos deberían analizar el posible efecto de otros factores que varíen con la fecha de siembra (como por ejemplo la temperatura), así como posibles interacciones entre ellos.

En relación al efecto del ambiente materno sobre los componentes de la semilla que imponen dormición, los resultados del tratamiento de perforación de las cubiertas indican que una parte significativa del efecto del materno se explicaría por la acción de este componente sobre la imposición de la dormición (Fig. 3.4, 3.6, 3.7, S3.6, S3.7, S3.8, S3.9, S3.10). Si bien hay trabajos que indican que en *A. hybridus* y otras amarantáceas la dormición se debe a la restricción mecánica impuesta por las cubiertas al crecimiento del embrión (Kigel 1994), en el presente trabajo, se aportan evidencias que sugieren la influencia del ambiente materno sobre esta restricción. Estos efectos estuvieron acompañados por cambios en el grosor de las cubiertas de las semillas ante cambios en la fecha de siembra y en la extensión fotoperiódica (Fig. 3.11), de manera comparable a lo detectado previamente en otras especies (Evenari et al. 1966; Karssen 1970; Pourrat y Jacques 1975). A su vez, los resultados indican que el ambiente materno

modificó el nivel de dormición embrionaria (Fig. 3.6). En este sentido, el efecto del fotoperíodo sobre la dormición embrionaria fue evidente cuando semillas con cubiertas perforadas fueron incubadas a bajas temperaturas ($<25^{\circ}\text{C}$; Fig. 3.6). No pudo establecerse, en cambio, si el efecto del ambiente materno opera a través de las vías hormonales generalmente asociadas a los cambios en el nivel de dormición (por ejemplo, diferencias en la sensibilidad al ABA, Fig. S3.9 y S3.10; o GA_3 , Fig. S3.7 y S3.8). Sin embargo, los resultados obtenidos en relación al rol de las cubiertas y el embrión en semillas de *A. hybridus* constituyen un avance en cuanto al conocimiento vigente para esta especie. El hecho de que estos resultados mostraran un ordenamiento similar al reportado para otras especies muestra la importancia de continuar analizando la posible existencia de un significado ecológico del efecto del ambiente materno común para distintas especies, y de profundizar nuestro entendimiento acerca de los mecanismos involucrados.

CAPÍTULO 4

Efecto de la temperatura durante la producción de semillas de *Polygonum aviculare* sobre el nivel de dormición y los patrones temporales de emergencia

Resumen

La temperatura ha sido señalada como el principal factor del ambiente materno que modula el nivel de dormición primaria de las semillas. Distintos trabajos sugieren que el efecto de este factor podría determinar una sincronización temporal de la germinación en semillas maduras y dispersadas en diferentes momentos. Este efecto sería comparable al descrito en semillas de *Polygonum aviculare* ante cambios en la fecha de siembra y el fotoperíodo en la presente tesis. Sin embargo, se desconoce la importancia relativa de la temperatura en relación al efecto de otros factores del ambiente materno, así como sus consecuencias sobre la dinámica de la dormición de las semillas luego de su dispersión. Por ello, este capítulo buscó analizar el efecto de la temperatura materna sobre la dormición y la emergencia a campo en *P. aviculare*, así como indagar el rol de este factor en relación al efecto del fotoperíodo previamente investigado en el Capítulo 2. Los resultados mostraron que la temperatura materna afecta el nivel de dormición de las semillas de *P. aviculare* y las simulaciones realizadas sugieren que este efecto impactaría sobre la emergencia, aunque esto último no pudo ser verificado en los experimentos de campo. A su vez, los resultados indican que la temperatura materna participaría de la sincronización de la emergencia en semillas maduras en diferentes momentos (por ejemplo, debido a cambios en la fecha de siembra). No obstante, en términos relativos, el efecto de la temperatura sería menor que el del fotoperíodo (otro de los factores que varía con la fecha de siembra y que resultaría un indicador comparativamente más confiable de la época del año).

4.2. Introducción

En los capítulos anteriores se mostró que el fotoperíodo es uno de los factores involucrados en la regulación del nivel de dormición de las semillas como resultado de variaciones en la fecha de siembra de la planta madre. Sin embargo, cambios en la fecha de siembra de las plantas implican variaciones en otros factores además del fotoperíodo, como por ejemplo la temperatura. La temperatura ha sido señalada como el principal factor que modula el nivel de dormición de las semillas al momento de su dispersión (Wiesner y Grabe 1972; Elwell et al. 2011; Kendall et al. 2011; Kendall y Penfield 2012; Chen et al. 2014; Huang et al. 2014; Macgregor et al. 2015; Springthorpe y Penfield 2015; Burghardt et al. 2016; Edwards et al. 2017; Penfield 2017). En buena medida, esto se debe a que en *Arabidopsis thaliana* este factor determinaría efectos relativamente más fuertes que los observados ante cambios en otros factores (Munir et al. 2001; Kendall et al. 2011). Por ejemplo, Springthorpe y Penfield (2015) detectaron cambios drásticos en el nivel de dormición de las semillas ante variaciones de tan sólo 1 °C en la temperatura que estas exploraron durante su maduración en la planta madre. No obstante, la importancia relativa de la temperatura en relación a otros factores del ambiente que varían con la fecha de siembra ha sido, en general, poco analizada.

En general, una mayor temperatura (asociada a un ambiente de maduración más tardío) determina que las semillas presenten un menor nivel de dormición primaria que el determinado bajo una menor temperatura (asociada a un ambiente de maduración más temprano). De esta manera, semillas dispersadas más temprano requerirían un mayor tiempo de post-maduración para germinar que aquellas dispersadas más tarde. Por ello, se ha propuesto que el efecto de la temperatura materna sobre el nivel de dormición podría contribuir a que semillas maduras en diferentes momentos sincronicen temporalmente su germinación y posterior emergencia (Burghardt et al. 2016; Edwards

et al. 2017), efecto comparable al descrito en los Capítulos 2 y 3 de esta tesis. Se desconoce, sin embargo, si efectivamente la temperatura materna contribuye a este efecto.

La temperatura materna afecta distintos aspectos del comportamiento germinativo de las semillas, lo cual sugiere que se trata de un efecto complejo. Por ejemplo, hay trabajos que muestran que cambios en la temperatura materna determinan importantes variaciones en la capacidad de las semillas para germinar bajo distintas disponibilidades de agua durante su incubación (Edwards et al. 2016). Más aún, hay trabajos que muestran que la temperatura prevaleciente durante la fase vegetativa también afectaría el nivel de dormición de las semillas en varias especies, como *Arabidopsis*, tabaco y avena (Thomas y Raper 1975; Sawhney et al. 1985; Chen et al. 2014). A su vez, se han detectado efectos de la temperatura materna sobre la dinámica de inducción en dormición secundaria especialmente en semillas de *A. thaliana*. En esta especie, semillas maduras a una menor temperatura presentan generalmente una mayor sensibilidad a factores que promueven la inducción en dormición secundaria que aquellas semillas que experimentaron una mayor temperatura durante su formación en la planta madre (Auge et al. 2015; Burghardt et al. 2016; Coughlan et al. 2017). En base a estas observaciones realizadas principalmente bajo condiciones controladas de laboratorio, se ha hipotetizado que la temperatura materna podría incidir sobre los patrones de emergencia a campo. Debido al impacto que este efecto podría potencialmente tener sobre la dinámica de las poblaciones naturales, resulta importante no sólo verificar estas observaciones bajo condiciones de campo, sino también indagar estos efectos en semillas de otras especies.

A pesar de los avances logrados, es posible afirmar que el impacto genuino y relativo de la temperatura materna sobre la dormición de las semillas ha sido poco caracterizado

(Chen et al. 2014; Springthorpe y Penfield 2015). Menos aún se ha verificado si tal influencia tiene el potencial de impactar sobre los patrones temporales de emergencia a campo. Profundizar nuestro conocimiento acerca de la regulación que ejerce la temperatura sobre la dormición resultaría fundamental para comprender y predecir la respuesta de las plantas al ambiente, particularmente en un contexto de cambio climático. Por ello, este capítulo ha tenido por objetivo estudiar mediante el desarrollo de modelos y simulaciones el efecto de la temperatura materna sobre (i) la salida de la dormición primaria y la inducción en dormición secundaria, (ii) la respuesta de las semillas a la luz, la alternancia térmica y al potencial osmótico del medio, y (iii) los patrones temporales de emergencia a campo de *P. aviculare*.

4.3. Materiales y métodos

4.3.3. Ensayos de ambiente materno

Distintos experimentos se realizaron durante dos años consecutivos en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (34° 25' S, 58° 25' O) con el fin de exponer a las plantas a una variedad de condiciones térmicas durante sus etapas de desarrollo y maduración de las semillas.

4.3.3.1. Variación de la temperatura materna mediante el uso de carpas

En 2017/18, plantas de *P. aviculare* se cultivaron en el campo hasta inicio de floración, cuando se transfirieron a carpas de polietileno (Fig. 4.1) que permitieron variar la temperatura durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas mediante el calentamiento de las mismas por radiación solar durante el día (Bodrone et al. 2017). Las carpas consistieron en estructuras cúbicas con techos a dos aguas, construidas con listones de hierro (1,5 m de alto, 1 m de ancho, 1,5 m de largo). Aquellas destinadas a generar un ambiente de “alta temperatura” (“Carpa AT”) contaron con todas sus caras completamente envueltas con polietileno transparente (100 µm de

espesor). Estas carpas tenían una puerta (también cubierta de polietileno) en una de las caras laterales que permitió la manipulación de las plantas dispuestas en su interior. Las puertas, junto a perforaciones realizadas en el techo permitieron el intercambio de gases y la reducción de la acumulación de humedad. Las carpas de baja temperatura (“Carpa BT”) sólo dispusieron de polietileno en sus techos y los 20 cm posteriores de las caras laterales en la parte superior. En los techos se realizaron las mismas perforaciones descritas para Carpa AT. Las carpas se dispusieron al azar sobre un espacio cubierto por nylon negro con el fin de evitar la emergencia de malezas (4 carpas por tratamiento, 7 plantas por carpa).

4.3.3.2. Variación de la temperatura materna en invernáculos

En 2017/18, plantas de *P. aviculare* se cultivaron en el campo hasta inicio de floración, cuando se transfirieron a invernáculos (Fig. 4.1) programados a temperaturas contrastantes con el objetivo de exponer a las plantas a distintos ambientes térmicos durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas. Los invernáculos permiten programar distintos valores de temperatura máxima que son alcanzados mediante un sistema de enfriamiento de flujo forzado de aire externo a través de almohadillas de enfriamiento de paja húmeda. Se dispusieron dos tratamientos contrastantes de alta y baja temperatura, “Invernáculo AT” e “Invernáculo BT”, respectivamente. Se cultivaron 40 plantas por invernáculo. Además, un grupo de 40 plantas se mantuvo fuera de las carpas durante todo el ciclo. Las semillas cosechadas se agruparon en 5 grupos (i.e. 8 plantas por grupo). Durante la aplicación de los tratamientos dentro de los invernáculos se evitó exponer a las plantas a temperaturas superiores a los 39-40 °C.

4.3.3.3. Variación de la temperatura materna en cámaras de crecimiento

En 2018, grupos de plantas fueron crecidas en cámaras de crecimiento (ISCO Modelo E-3, Lincoln, USA) programadas a dos condiciones de térmicas contrastantes a partir de floración. Se utilizaron 10 plantas por cámara, las cuales se mantuvieron a una temperatura común de $22,16 \pm 0,26$ °C hasta floración, cuando se expusieron a temperaturas que simularan condiciones de una primavera temprana (BT-programada a 20 °C) y del verano (AT-programada a 27 °C). El fotoperíodo fue de 16 h, el flujo de fotones de $\sim 310 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ con una R:RL de $1,17 \pm 0,09$.



Figura 4. 1. Vista de los experimentos con carpas de polietileno y de los invernáculos en los cuales fueron crecidas las plantas de *P. aviculare* a partir de floración bajo diferentes temperaturas.

Para generar las plantas se utilizaron semillas de *P. aviculare* recolectadas en campos productivos de Balcarce ($37^{\circ} 45' \text{ S}$, $58^{\circ} 18' \text{ O}$, Buenos Aires, Argentina). Las semillas se almacenaron en frascos de vidrio negro a ~ 20 °C hasta el inicio de los ensayos de ambiente materno realizados en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, Argentina ($34^{\circ} 25' \text{ S}$, $58^{\circ} 25' \text{ W}$). Para los experimentos en carpas e invernáculos (ambos experimentos se realizaron en forma simultánea), el 28 de junio de 2017 se sembraron semillas pre-germinadas a $10/24$ °C en bandejas, las cuales se mantuvieron en un invernáculo ($24,3 \pm 4,23$ °C). Luego de 15 d, las plantas se trasplantaron a macetas de plástico de 15 dm^3 (sustrato de suelo, arena y perlita, 3: 3: 1) y se transfirieron al campo hasta el inicio de los tratamientos. Para las cámaras, la siembra se realizó el 12 de marzo de 2018 en macetas de 10 dm^3 (utilizando el mismo sustrato) y las plantas

fueron crecidas en las cámaras de crecimiento todo su ciclo. Las plantas utilizadas en todos los ensayos alcanzaron la floración dentro de una misma semana. Las semillas dispersadas naturalmente se retuvieron envolviendo las plantas con bolsas de nylon de malla fina y se cosecharon cada 10-15 d. Las semillas cosechadas se utilizaron para los experimentos de post-maduración iniciados inmediatamente luego del acondicionamiento de las semillas (< 3 d post-cosecha). La temperatura y humedad se registraron por hora a la altura de las plantas (Hobo U10, HOBO, USA y DAT-10, Dataloggers de temperatura y humedad, Schwyz, China). La radiación se midió con un radiómetro lineal o un radiómetro/fotómetro (LI-191S, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA; Li-COR integrating quantum, Li-188B; Lincoln, USA). Estas variables ambientales fueron registradas tanto dentro de las carpas, invernáculos y cámaras, como a campo. Otros datos ambientales se obtuvieron de una estación meteorológica a 20 m del sitio experimental.

4.3.4. Experimentos de post-maduración

4.3.4.1. Dormición primaria

El Experimento 1 (E1) tuvo por objetivo examinar el efecto del ambiente térmico explorado por las semillas durante su desarrollo y maduración en la planta madre sobre los cambios en el rango de temperaturas permisivas para la germinación. Para ello se utilizaron semillas obtenidas de plantas crecidas en carpas, las cuales fueron estratificadas a $1,6 \pm 0,47$, $4,7 \pm 0,62$ ó $9,2 \pm 0,42$ °C. Luego de 0, 8, 25, 50, 75 y 100 d de estratificación la germinación se evaluó a temperaturas de incubación constantes de 10, 15, 20, 25 °C y a $10/24$ °C (12h/12h).

La dormición primaria en semillas obtenidas de plantas crecidas en invernáculos fue analizada mediante distintos ensayos: (a) se incubaron semillas a $10/24$ °C luego de 0, 10, 15, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,7 °C, (b) se incubaron semillas recién

cosechadas a 2, 5 y 15 °C hasta que la germinación acumulada alcanzara un claro plateau, y (c) se incubaron semillas bajo diferentes potenciales osmóticos a 15 °C y 10/24 °C, luego de 0, 12 y 85 d de estratificación a 4,7 °C.

Para analizar variaciones en los requerimientos de luz para germinar, se utilizaron semillas de plantas crecidas en carpas e invernáculos, las cuales fueron estratificadas a 4,7 °C. A los 0, 10, 25, 50 y 75 d de estratificación, la germinación se evaluó a 15 y 10/24 °C, luego de exponer las semillas a (i) 20 min de luz R de una intensidad de 28 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, (ii) 20 min de luz RL con una intensidad de 32 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ o a (iii) oscuridad constante (Batlla y Benech-Arnold 2005). Las semillas de plantas crecidas en invernáculos fueron expuestas únicamente a (i) y (iii) e incubadas a 10/24 °C.

Las semillas obtenidas de plantas crecidas en cámaras fueron utilizadas para verificar el efecto de la temperatura materna cuando las demás variables ambientales permanecen constantes. En este ensayo sólo se evaluó la germinación a 15 y 10/24 °C al momento de la cosecha.

4.3.4.2. Dormición secundaria

El Experimento 2 (E2) fue diseñado para analizar el efecto de la temperatura materna sobre la inducción en dormición secundaria. Las semillas obtenidas de plantas crecidas en invernáculos fueron estratificadas a 4,7 °C durante 75 d para liberarlas de la dormición. Luego, fueron almacenadas bajo condiciones que promueven la inducción de la dormición, en húmedo a $24,13 \pm 0,84$ y $34,23 \pm 0,73$ °C durante 0, 2, 3, 5, 7, 12, 17, 19, 21 y 24 d, cuando la germinación se evaluó a 10/24 °C.

4.3.4.3. Patrones temporales de emergencia a campo

El Experimento 3 (E3) analizó el efecto de la temperatura materna sobre los patrones de emergencia a campo. Inmediatamente luego de la cosecha las semillas obtenidas de

plantas crecidas en carpas fueron enterradas en el suelo y la emergencia se evaluó el 12 de marzo, el 6 de junio, el 3 de agosto, el 16 de septiembre y el 12 de octubre de 2018.

4.3.5. Condiciones de post-maduración

La metodología empleada para la post-maduración en laboratorio (E1 y E2) y a campo (E3) fue detallada en el Capítulo 2 (Ver materiales y métodos). En resumen, las semillas fueron enterradas a 5 cm de profundidad en macetas (E1 y E2) o en el campo (E3). En E1 y E2, el sustrato utilizado (descrito anteriormente) se mantuvo húmedo a lo largo de todo el ensayo, siguiendo la metodología detallada en el Capítulo 2. Al inicio de E3 se evaluó la germinación a 15 y 10/24 °C para registrar el nivel de dormición inicial de las semillas (germinación <1%). En cada experimento, se registró la temperatura y humedad por hora a la profundidad de las semillas (DAT-10, Dataloggers de temperatura y humedad, Schwyz, China; Decagon, Em5b Datalogger, USA).

4.3.6. Pruebas de germinación y emergencia

Las pruebas de germinación (E1 y E2) y de emergencia (E3) se realizaron según la metodología descrita en el capítulo 2. La germinación se registró diariamente, excepto cuando se analizó la respuesta de las semillas a la luz, en cuyo caso se registró a los 15 d de incubación. Al final de cada prueba, se evaluó la viabilidad mediante la compresión e inspección visual de las semillas remanentes (>95%). A los 75/100 d de estratificación a 4,7 °C, se verificó la viabilidad de las semillas mediante la incubación de embriones a 10/24 °C (~100%). Las soluciones osmóticas fueron preparadas disolviendo diferentes cantidades de PEG (PEG 6000, Fluka, Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) en agua destilada según Michel (1983) y los valores de potencial agua obtenidos se verificaron con un osmómetro de presión de vapor (VAPRO 5520, Wescor Inc., Utah, USA). A diario se cambiaron los filtros y solución PEG para mantener constante el potencial

agua del medio (Ni y Bradford 1992). En las incubadoras la temperatura se registró en forma horaria (DAT-10, Dataloggers de temperatura y humedad, Schwyz, China).

Para las pruebas de emergencia (E3) se utilizaron 4 réplicas por tratamiento, conformada cada una por 600 semillas. La emergencia se registró a diario durante 30 d durante los cuales los cilindros fueron regados y desmalezados. El 3 de agosto se realizaron extracciones adicionales de bolsas para verificar la viabilidad de las semillas mediante pruebas de germinación a 10/24 °C ($91,6 \pm 3,64\%$). La temperatura y humedad del suelo se registró por hora a la profundidad de entierro de las semillas en el suelo ($\sim 1,5$ cm; Decagon, Em5b Datalogger, USA).

4.4. Resultados

4.4.3. Condiciones ambientales durante el crecimiento de las plantas y producción de semillas

Las semillas experimentaron variaciones en el ambiente térmico explorado durante su desarrollo y maduración en la planta madre en una magnitud que dependió del tratamiento aplicado (Fig. 4.2; Cuadro 4.1). Aquellas plantas que fueron crecidas en invernáculos a “alta” (Invernáculo AT) y “baja” (Invernáculo BT) temperatura experimentaron una variación de ~ 9 °C. Cuando los tratamientos se aplicaron mediante el uso de carpas, esta diferencia fue aproximadamente de 3 °C (Carpa AT y Carpa BT). El menor contraste térmico (AT vs BT) generado por el uso de carpas pudo deberse a la apertura diaria de las Carpas AT, lo cual se realizó con el objetivo de aminorar posibles incrementos en la presión de vapor y la acumulación de CO₂ (Rattalino et al. 2014). Las temperaturas durante el período post-floración-cosecha en las cámaras de crecimiento fueron de $17,7 \pm 0,6$ °C (BT) y $27,6 \pm 2,1$ °C (AT), lo que determinó una diferencia entre tratamientos de ~ 10 °C.

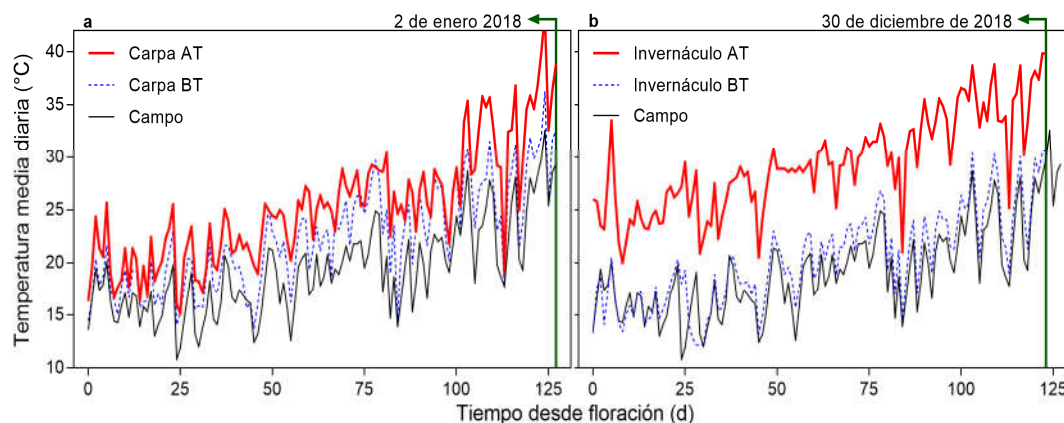


Figura 4. 2. Temperatura media diaria registrada durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas de *P. aviculare* en la planta madre en (a) las carpas a alta (AT) y baja (BT) temperatura, (b) los invernáculos a alta (AT) y baja (BT) temperatura, y en el campo. Las flechas verdes indican el fin de cada experimento de ambiente materno.

Cuadro 4. 1. Valores promedio (\pm DE) de temperatura, fotoperíodo, humedad relativa y radiación incidente durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas de *P. aviculare* en la planta madre para los experimentos realizados en carpas, invernáculos y condiciones de campo (i.e. exterior).

	Carpa AT	Carpa BT	Invernáculo AT	Invernáculo BT	Campo
Temperatura media diaria (°C)	25,38 \pm 5,61	22,46 \pm 4,85	29,88 \pm 4,63	20,69 \pm 3,64	19,06 \pm 4,02
Temperatura mínima media diaria (°C)	13,57 \pm 6,21	10,98 \pm 5,61	17,89 \pm 5,33	8,62 \pm 3,86	8,02 \pm 3,364
Temperatura máxima media diaria (°C)	36,05 \pm 5,98	33,11 \pm 4,79	39,32 \pm 4,78	31,88 \pm 3,87	31,87 \pm 3,74
Fotoperíodo promedio (h)	14,72				
Humedad relativa promedio (%)	66,36 \pm 8,89	59,49 \pm 7,12	71,03 \pm 10,91	67,96 \pm 9,52	53,28 \pm 6,48
Radiación media diaria (Mj m ⁻²)	25,48 \pm 9,72				
% de la RFA	64,87 \pm 1,24		68,33 \pm 2,85		100

AT y BT refieren a los tratamientos de “alta” y “baja” temperatura, respectivamente. %RFA refiere a la radiación fotosintéticamente activa (RFA) que incidió sobre las plantas dentro de las carpas e invernáculos en relación a la RFA a la que fueron expuestas las plantas crecidas en el campo.

A su vez, los distintos tratamientos aplicados para manipular el ambiente térmico determinaron variaciones en las temperaturas medias diarias logradas por los tratamientos “BT” y “AT” (Fig. S4.1). En general, la temperatura media diaria en el tratamiento Invernáculo BT fue menor a la de las Carpas BT, mientras que la temperatura media diaria en los Invernáculos AT fue mayor a la de las Carpas AT. Además de las variaciones registradas en la temperatura, la humedad relativa fue en

promedio mayor y la radiación media diaria, menor para plantas crecidas en carpas e invernáculos que para aquellas plantas mantenidas en el campo (Cuadro 4.1).

4.4.4. Efecto de la temperatura materna sobre la dormición

En términos generales, las semillas expuestas a una mayor temperatura media diaria durante su desarrollo y maduración en la planta madre presentaron un menor nivel de dormición primaria que aquellas semillas expuestas a una menor temperatura (Fig. 4.3, 4.4 y 4.5). La magnitud de estas diferencias, no obstante, varió según el tratamiento aplicado (carpas, invernáculos o cámaras), las condiciones y tiempos de post-maduración evaluados y la temperatura/régimen de incubación utilizada. En los experimentos de carpas (variación térmica de ~ 3 °C), las semillas expuestas a una mayor temperatura materna mostraron porcentajes de germinación mayores que aquellas expuestas a una menor temperatura (Fig. 4.3). A su vez, estas diferencias fueron mayores a menor temperatura de estratificación (1,6 y 4,7 °C) y de incubación (10, 15, 20 °C). A temperaturas de incubación constantes de 10, 15 e incluso 25 °C (i.e. la mínima, media y máxima temperatura del régimen de incubación fluctuante), las variaciones observadas en la germinación por efecto de los tratamientos de temperatura materna fueron generalmente mayores a las detectadas a 10/24 °C, particularmente para aquellas semillas que fueron estratificadas a 1,6 °C.

De forma similar, la germinación de las semillas obtenidas de invernáculos a mayor temperatura (variación térmica de ~ 9 °C) fue mayor a cosecha y durante la estratificación que la de aquellas semillas provenientes de invernáculos a menor temperatura o del campo (Fig. 4.4 y 4.5a). Esto se observó tanto en semillas estratificadas a 4,7 °C e incubadas a 15 y a 10/24 °C, como en aquellas incubadas desde cosecha a 2, 5 y 15 °C (Fig. S4.2).

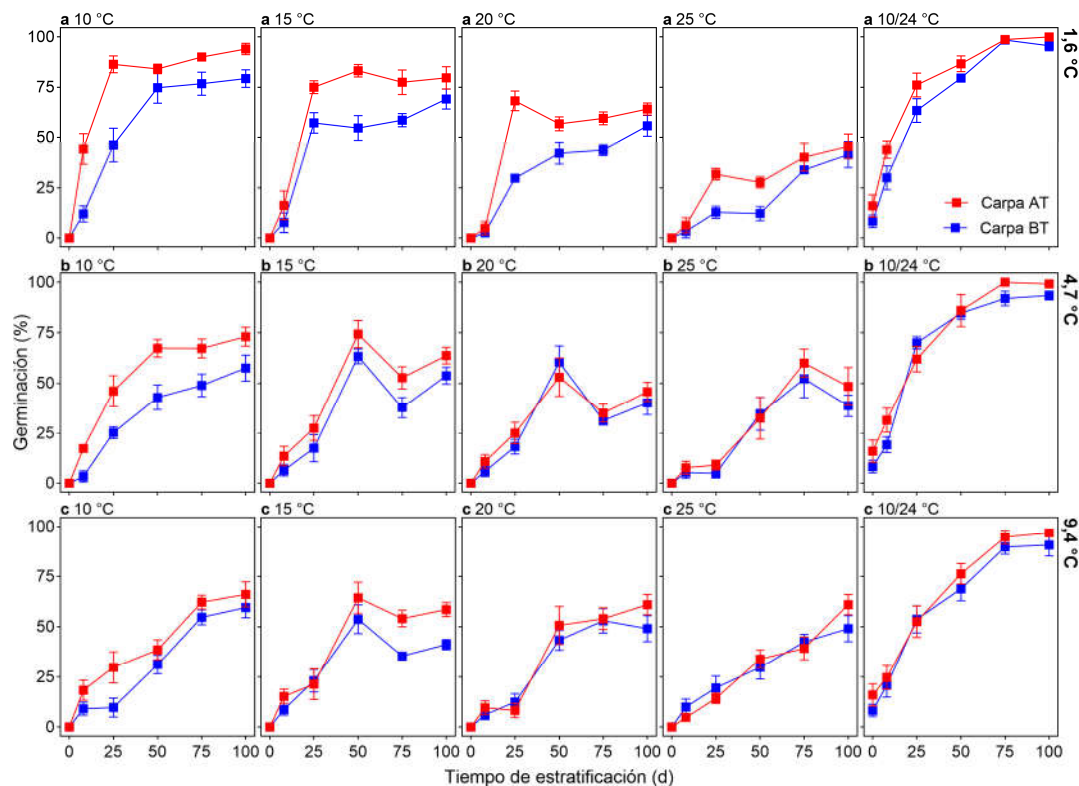


Figura 4. 3. Germinación final (%) de semillas de *P. aviculare* incubadas durante 15 d a 10, 15, 20, 25 y 10/24 °C luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d de estratificación a 1,6 (a) 4,7 (b) y 9,2 °C (c). Las semillas se obtuvieron de plantas crecidas en carpas a diferentes temperaturas (Carpa AT-Alta temperatura, Carpa BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de $25,38 \pm 5,61$ y $22,46 \pm 4,85$ °C, respectivamente). Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar.

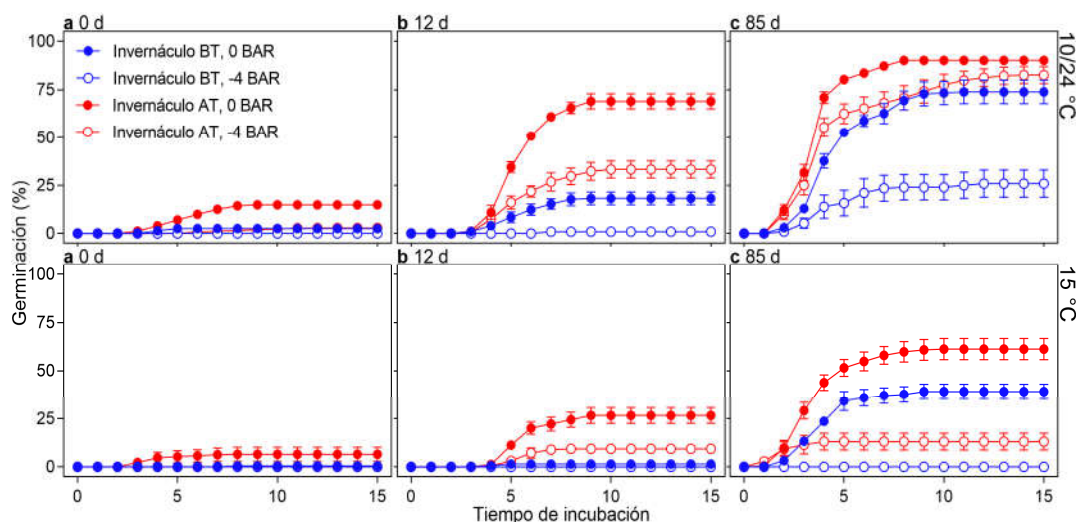


Figura 4. 4. Germinación acumulada (%) de semillas de *P. aviculare* incubadas a 10/24 °C (arriba) o 15 °C (abajo) a 0 (agua destilada) o -4 BAR luego de ser estratificadas por (a) 0, (b) 12 y (c) 82 d a 4,7 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas crecidas en invernáculos a diferentes temperaturas (Invernáculo AT-Alta temperatura, Invernáculo BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de $29,88 \pm 4,63$ y $20,69 \pm 3,64$ °C, respectivamente). Los símbolos representan la media ($n=5$) y las barras verticales, el error estándar.

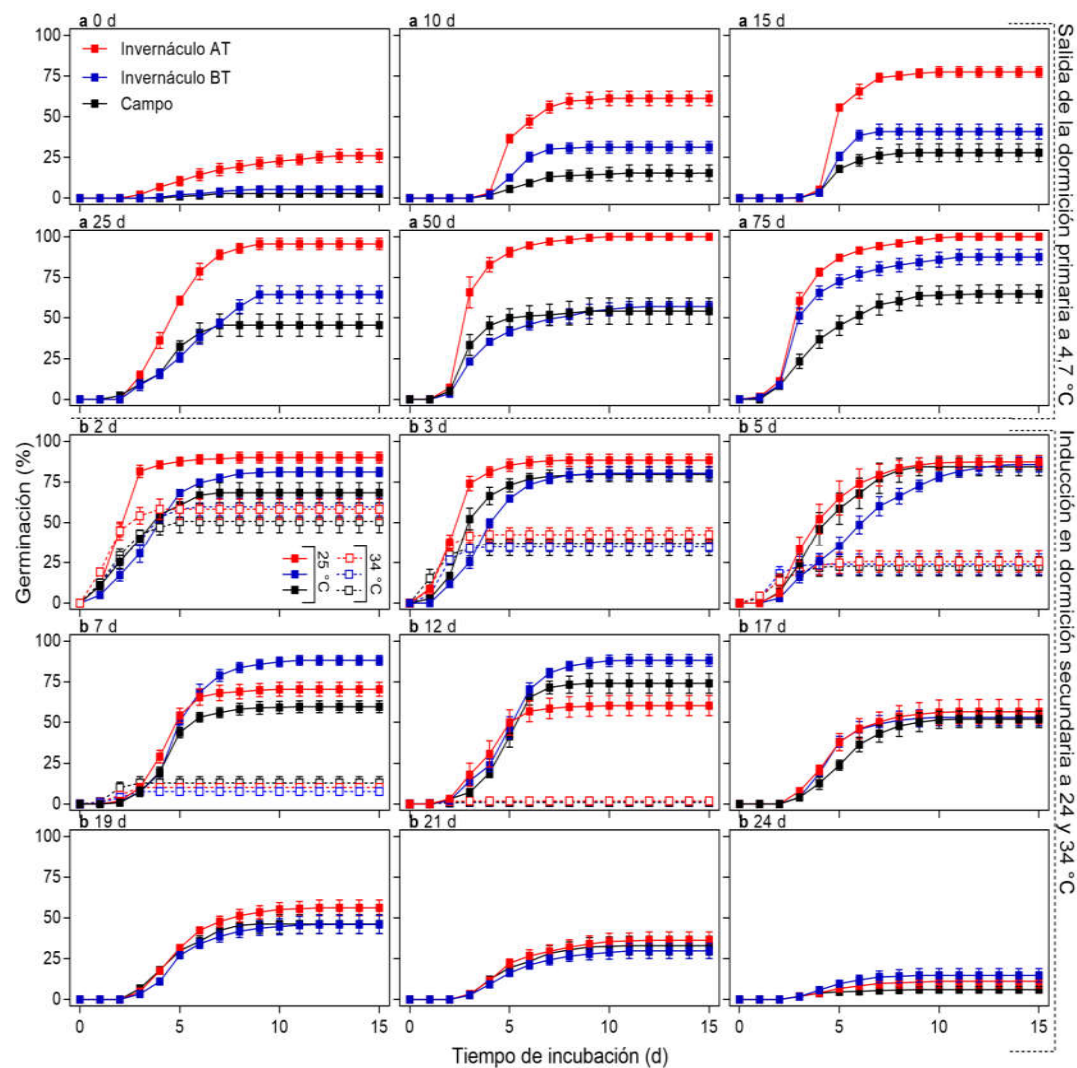


Figura 4. 5. Germinación acumulada (%) de semillas de *P. aviculare* a 10/24 °C luego de (a) 0, 10, 15, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,7 °C y (b) 0 (i.e. a los 75 d de estratificación) 2, 3, 5, 7, 12, 17, 19, 22 y 27 d de almacenaje a 24 y 34 °C. Las semillas provinieron de plantas crecidas en invernáculos a diferentes temperaturas (Invernáculo AT-Alta temperatura, Invernáculo BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de $29,88 \pm 4,63$ y $20,69 \pm 3,64$ °C, respectivamente). Los símbolos representan la media ($n=5$) y las barras verticales, el error estándar.

Cuando se analizó la germinación de las semillas bajo potenciales osmóticos contrastantes (0 y -4 BAR), los porcentajes observados dependieron de las condiciones térmicas exploradas por las mismas en la planta madre, el tiempo de estratificación y la temperatura de incubación (Fig. 4.4). A 10/24 °C, semillas obtenidas de un ambiente de maduración más frío (Invernáculo BT) e incubadas bajo un potencial osmótico reducido sólo mostraron un incremento de la germinación del orden del 25% luego de 85 d de

estratificación. En cambio, aquellas semillas obtenidas de un ambiente de maduración más cálido (Invernáculo AT) mostraron una mayor capacidad de germinar bajo un potencial osmótico reducido, incluso luego de 12 d es estratificación. A los 85 d, estas semillas lograron valores similares (~85%) de germinación a los alcanzados por semillas incubadas en agua destilada. A 15 °C, la germinación bajo estrés hídrico fue siempre reducida, en mayor medida en aquellas semillas obtenidas del Invernáculo BT.

El efecto de la temperatura fue verificado en semillas obtenidas de plantas crecidas en cámaras de crecimiento, donde el único factor que varió fue la temperatura post-floración (Fig. 4.6). Las diferencias fueron consistentes pero sutiles (<20%), ya que el nivel de dormición a cosecha fue relativamente bajo.

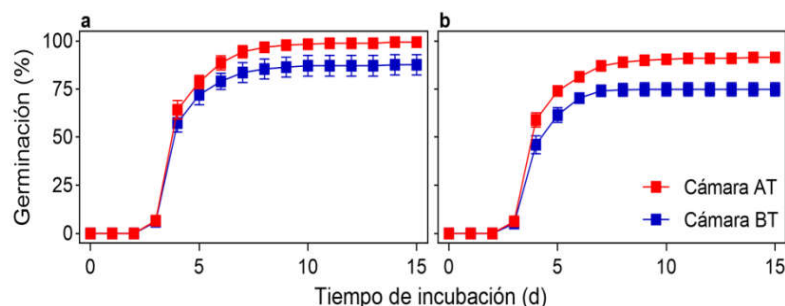


Figura 4. 6. Germinación acumulada (%) de semillas de *P. aviculare* incubadas a cosecha durante 15 d a (a) 10/24 °C y (b) 15 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas crecidas en cámaras a diferentes temperaturas (Cámara AT-Alta temperatura, Cámara BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de $17,7 \pm 0,6$ y $27,6 \pm 2,1$ °C, respectivamente). Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar.

Variaciones en la temperatura explorada por las semillas durante su formación en la planta madre no sólo determinaron cambios en el nivel de dormición primaria de las semillas (Fig. 4.5a), sino también sobre la dinámica de inducción en dormición secundaria durante el almacenaje en húmedo a 24 y 34 °C (Fig. 4.5b). Esto último se asoció a diferencias en las tasas de inducción en dormición secundaria, donde semillas expuestas al invernáculo AT durante su fase reproductiva evidenciaron una mayor tasa de inducción en dormición que las expuestas al invernáculo BT o a condiciones de campo. Por ejemplo, mientras que semillas del Invernáculo AT germinaron más a los 0

(i.e. a los 75 d de estratificación), 2 y 3 d de almacenaje a 24 °C, a partir de los 17 d equipararon los niveles de germinación logrados por aquellas obtenidas del tratamiento BT (que expresaban un mayor nivel de dormición inicial). Las variaciones en las tasas de inducción fueron aún más evidentes a 34 °C, en cuyo caso las diferencias en la germinación dejaron de observarse transcurridos solamente los 2-3 d de almacenaje.

4.4.5. Efecto de la temperatura materna sobre la respuesta de las semillas a la luz

Variaciones en la temperatura explorada por las semillas durante su formación en la planta madre generaron diferentes efectos sobre la respuesta de las mismas a la luz (Fig. 4.7 y 4.8). Las variaciones observadas dependieron no sólo del tratamiento materno evaluado (semillas obtenidas de carpas mostraron menores variaciones en la germinación que aquellas provenientes de invernáculos), sino también de los tratamientos lumínicos aplicados (oscuridad constante, R o RL), y de la temperatura de incubación (15 o 10/24 °C).

Cuando las semillas fueron obtenidas de plantas crecidas en carpas y plantas mantenidas fuera de las carpas, la germinación aumentó luego de un pulso de R a 15 °C y, en mayor medida, a 10/24 °C (Fig. 4.7). Luego del pulso de R no se observaron variaciones en los porcentajes de germinación. En oscuridad o luego de un pulso de luz RL, sólo se observaron aumentos de la germinación cuando las semillas fueron incubadas a 10/24 °C (a 15 °C, la germinación no superó el 15%). En este sentido, el efecto de la temperatura materna en las semillas obtenidas de carpas y plantas crecidas en el campo resultó más evidente bajo condiciones de oscuridad y luego de un pulso de luz RL, donde semillas obtenidas de Carpas AT mostraron, en líneas generales, una mayor germinación a 10/24 °C que aquellas provenientes de Carpas BT y de plantas crecidas a campo (Fig. 4.7).

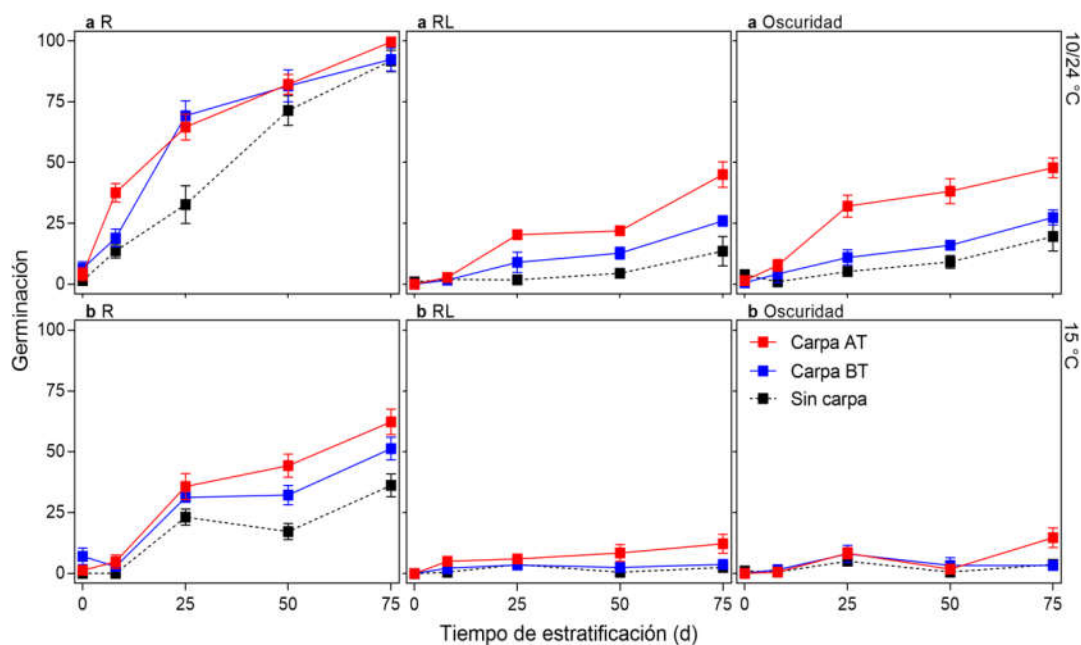


Figura 4. 7. Germinación final (%) a (a) 10/24 °C y (b) 15 °C de semillas de *P. aviculare* estratificadas a 4,7 °C durante 0, 10, 25, 50 y 75 d luego de ser expuestas a 20 min de R (intensidad de $28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), 20 min de RL (intensidad de $32 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) u oscuridad constante. Las semillas se obtuvieron de plantas crecidas en carpas a diferentes temperaturas (Carpa AT-Alta temperatura, Carpa BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de $25,38 \pm 5,61$ y $22,46 \pm 4,85$ °C, respectivamente). Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar.

Las condiciones experimentadas en los invernáculos generaron cambios más evidentes en la capacidad de las semillas de germinar en oscuridad y luego de un pulso de R que aquellas observadas cuando las semillas provinieron de plantas crecidas en carpas (Fig. 4.8). Aunque la germinación de semillas provenientes de plantas expuestas a una mayor temperatura en invernáculos siempre superó a la alcanzada por aquellas obtenidas de un ambiente de menor temperatura, las diferencias entre tratamientos fueron mayores en oscuridad que luego del pulso de R. De hecho, semillas producidas en Invernáculos AT, a diferencia de aquellas generadas en Invernáculos BT, mostraron menores requerimientos de luz para terminar la dormición al cabo de 50/75 d de estratificación, lo que se refleja en la reducida diferencia obtenida en la germinación con respecto a semillas expuestas a la luz.

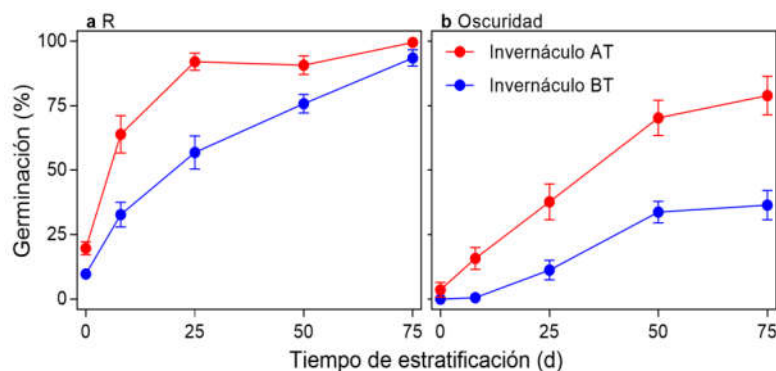


Figura 4. 8. Germinación final (%) a (a) 10/24 °C y (b) 15 °C de semillas de *P. aviculare* que fueron estratificadas a 4,7 °C durante 0, 10, 25, 50 y 75 d luego de ser expuestas a 20 min de R (con una intensidad de $28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) u oscuridad constante. Las semillas se obtuvieron de plantas crecidas en invernáculos a diferentes temperaturas (Invernáculo AT-Alta temperatura, Invernáculo BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de $29,88 \pm 4,63$ y $20,69 \pm 3,64$ °C, respectivamente). Los símbolos representan la media ($n=5$) y las barras verticales, el error estándar.

4.4.6. Efecto de la temperatura materna sobre los patrones de emergencia a campo

Semillas obtenidas de plantas crecidas en carpas (Carpa AT y BT, variación de temperatura de ~ 3 °C) fueron enterradas en el suelo a cosecha (3 de enero de 2018) y extraídas periódicamente para analizar el efecto de la temperatura materna sobre la emergencia a campo (Fig. 4.9). Se observó un mismo patrón temporal para ambos lotes de semillas (Carpa AT y BT): la emergencia aumentó desde junio hasta la extracción de agosto y disminuyó gradualmente hasta octubre. Por otro lado, tampoco se detectaron variaciones significativas en los porcentajes de emergencia para las distintas fechas evaluadas (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$; Fig. 4.9). En pruebas realizadas en los meses de agosto y septiembre, no obstante, la emergencia tendió a ser ligeramente mayor cuando las semillas fueron obtenidas de un ambiente materno de mayor temperatura (Carpa AT) que para semillas provenientes de un ambiente materno menor temperatura (Carpa BT).

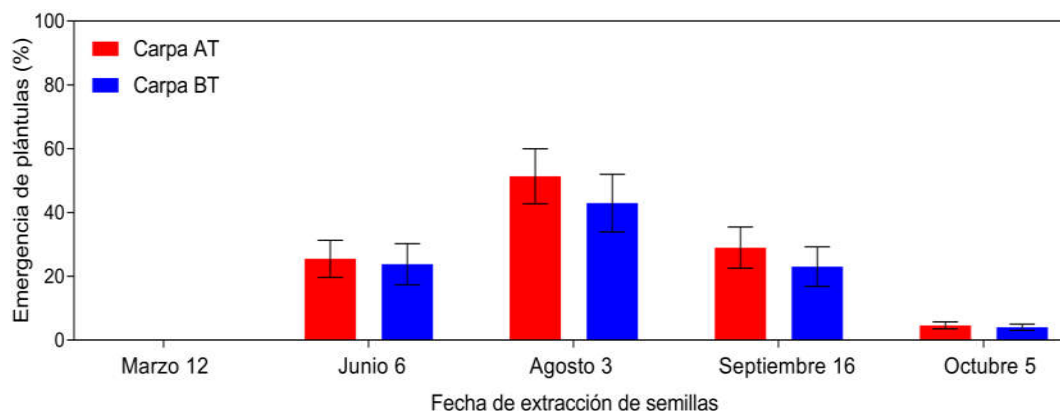


Figura 4. 9. Emergencia final de plántulas de *P. aviculare* (%) obtenida en 5 extracciones realizadas en el campo. Las semillas se obtuvieron de plantas crecidas en carpas a diferentes temperaturas (Carpa AT-Alta temperatura, Carpa BT-Baja temperatura, a temperaturas medias de $25,38 \pm 5,61$ y $22,46 \pm 4,85$ °C, respectivamente). Las semillas se enterraron el 3 de enero (2018). Las columnas representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar.

4.4.7. Cuantificación y simulación del efecto de la temperatura materna sobre la germinación

El efecto de la temperatura media experimentada por las semillas durante su desarrollo y maduración en la planta madre fue modelado en función del TT de estratificación requerido para que el 25 y el 50% de esas semillas germinen a 10/24 °C. Los tiempos de estratificación al 25 y el 50% de germinación se estimaron mediante el ajuste de modelos que maximizaran el R^2 entre los datos de germinación final y el tiempo de estratificación a 1,6, 4,7 o 9,2 °C (Fig. 4.3 y 4.5). Los valores obtenidos se expresaron en unidades de TT utilizando una temperatura umbral de 13,5 °C (Ver Capítulo 2). Estos valores ajustaron adecuadamente a regresiones lineales cuando fueron graficados en función de la temperatura media que las semillas exploraron durante su desarrollo y maduración en la planta madre (Fig. 4.10). Estas regresiones reflejan la correlación significativa y negativa ($r=-0,82$ y $r=-0,85$ para el 25 y el 50%, respectivamente) entre la temperatura materna y el nivel de dormición de las semillas (Fig. 4.10a).

Utilizando los datos de temperatura del suelo registrados durante el experimento de emergencia a campo (Fig. 4.10b) se simuló el momento en el que ocurre la germinación para el 25 y el 50% de las semillas producidas bajo diferentes ambientes térmicos (se utilizó para este ejemplo el promedio térmico explorado en los tratamientos Carpa AT y BT, ya que estos fueron los tratamientos empleados para analizar la emergencia campo). La simulación predijo variaciones temporales en la germinación de 7 d para el 25% y 12 d para el 50% como resultado de los efectos sobre el nivel de dormición de cambios de aproximadamente 3 °C en la temperatura media explorada por las semillas durante su formación en la planta madre.

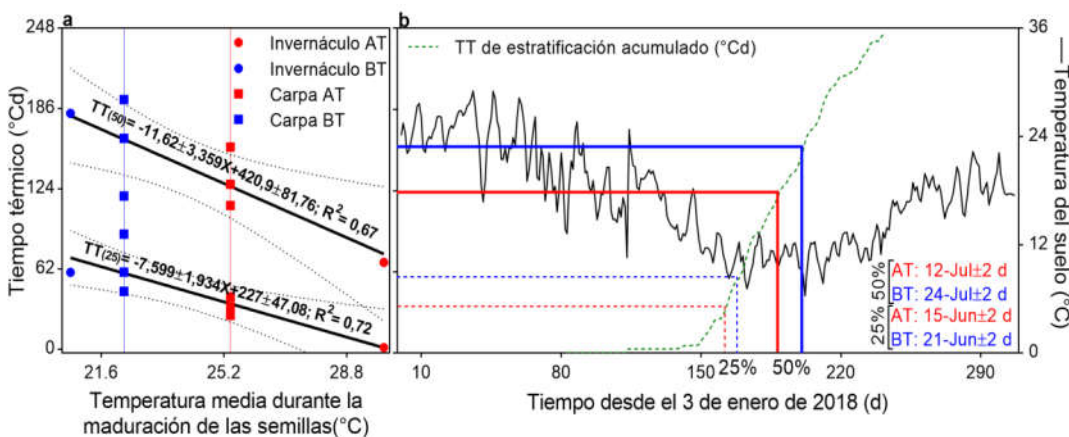


Figura 4. 10. (a) Tiempo térmico de estratificación (°Cd) requerido para que germine el 25 y el 50% de la población de semillas de *P. aviculare* a 10/24 °C en función de la temperatura media experimentada por esas semillas durante su desarrollo y maduración en la planta madre. Los modelos se desarrollaron con datos de germinación final de semillas obtenidas de los experimentos realizados en carpas (estratificadas a 1,6, 4,7 y 9,2 °C; ■) e invernáculos (estratificadas a 4,7 °C; ●). El TT se calculó considerando una temperatura umbral de 13,5 °C para la salida de la dormición (Ver Capítulo 1). Las ecuaciones (IC= 95%) y R^2 figuran sobre las rectas ajustadas. Las líneas verticales roja (22,5±4,8 °C; BT) y azul (25,4±5,6 °C; AT) señalan la temperatura materna media considerada en cada simulación en (b). (b) TT de estratificación y temperatura del suelo registrada en el experimento de campo. Las líneas punteadas y las líneas gruesas refieren a las simulaciones para el 25% y el 50% de la población, respectivamente. Según la simulación, el 25% germinará el 15/06±2 d y el 21/06±2 d y el 50%, el 12/07±2 d y el 24/07±2 d, cuando las semillas provienen de un ambiente de mayor (25,4±5,6 °C; AT) y menor (22,5±4,8 °C; BT) temperatura, respectivamente.

4.4.8. El rol de la temperatura materna en relación al efecto del fotoperíodo

En este apartado se intenta analizar en qué medida la variabilidad observada en el comportamiento germinativo de las semillas ante cambios en la fecha de siembra se

correlaciona con las variaciones de la temperatura y del fotoperíodo (este último, analizado en el Capítulo 2 de la presente tesis). Para ello, se estimó el tiempo de estratificación (en días) requerido para alcanzar el 50% de la germinación mediante una metodología similar a la descrita en el apartado anterior (Fig. 4.11a), utilizando los datos de germinación final obtenidos a 10/24 °C con semillas estratificadas a 4,7-4,8 °C de los experimentos de fecha de siembra (Fig. 2.3, S2.2 y S2.3; Capítulo 2), fotoperíodo (Fig. 2.4 y S2.4; capítulo 2) y temperatura (Fig. 4.3 y 4.5).

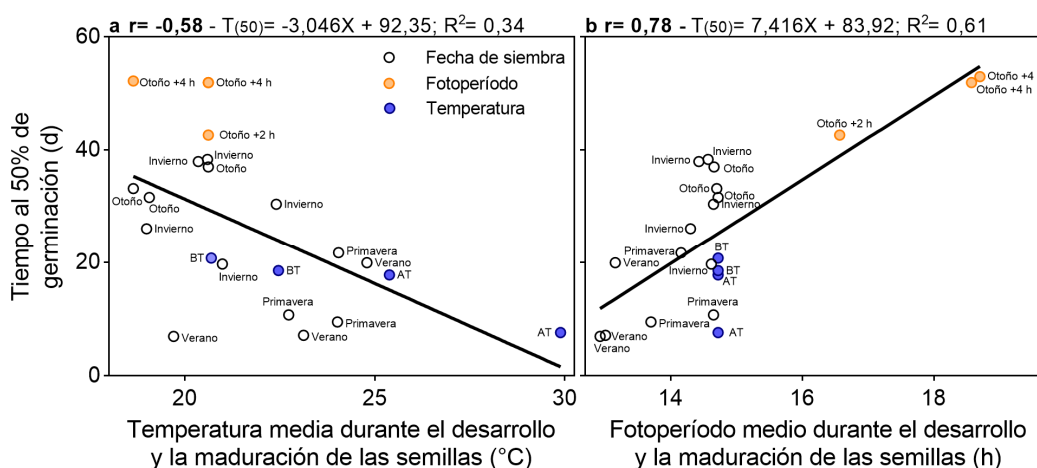


Figura 4. 11. Tiempo de estratificación (d) a 4,7-4,8 °C (d) requerido para que germine el 50% de la población de semillas de *P. aviculare* bajo condiciones óptimas (i.e. incubadas a 10/24 °C, luego de ser expuestas a un pulso de luz R) en función (a) la temperatura y (b) el fotoperíodo que en promedio que experimentaron las semillas durante su desarrollo y maduración en la planta madre. Para el desarrollo de estos modelos se utilizaron datos obtenidos de plantas sembradas en distintas fechas y años (○) y expuestas a distintos fotoperíodos (●) maternos (Capítulo 2) y temperaturas (●). Los coeficientes de correlación, las ecuaciones de la regresión y sus respectivos R^2 figuran dentro de cada panel.

Los valores obtenidos de tiempo de estratificación requerido para alcanzar el 50% de la germinación fueron graficados en función de la temperatura (Fig. 4.11a) y el fotoperíodo (Fig. 4.11b) que exploraron, en promedio, las semillas durante su maduración (i.e. desde floración de la planta madre a la dispersión). El nivel de dormición se correlacionó significativamente con ambos factores (Fig. 11). No obstante, la correlación fue mayor con el fotoperíodo ($r = 0,78$) que con la temperatura ($r = 0,58$). Por su parte, las regresiones ajustadas indicaron que la temperatura materna explica una

proporción significativa de la variabilidad observada en el nivel de dormición de las semillas. Sin embargo, en el rango térmico explorado el fotoperíodo explica una proporción mayor de dicha variabilidad.

4.5. Discusión

En coincidencia con lo observado para numerosas especies (Fenner 1991; Kendall y Penfield 2012), el presente capítulo muestra que en *P. aviculare* (i) la tasa de salida de la dormición primaria (Fig. 4.3, 4.5 y S4.2), (ii) la respuesta de las semillas a la luz y a la alternancia térmica (Fig. 4.7 y 4.8), (iii) la capacidad de germinar bajo distintos potenciales osmóticos (Fig. 4.4) y (iv) la dinámica de inducción en dormición secundaria (Fig. 4.5) son procesos afectados por las condiciones térmicas que las semillas experimentan durante su desarrollo y maduración en la planta madre. Estos resultados, sugieren que la temperatura materna es un factor que interviene en la regulación de la dormición debido a cambios en la fecha de siembra (Fig. 4.10), posibilitando que semillas maduras y dispersadas en diferentes momentos sean capaces de sincronizar su germinación (Ver resultados del Capítulo 2). Sin embargo, en términos relativos, los resultados sugieren que la influencia de la temperatura materna sobre la dormición podría ser en términos relativos menor a la adjudicada previamente para *A. thaliana*, y en relación a otros factores que también varían con la fecha de siembra, como el fotoperíodo (Fig. 4.11).

Las semillas de *P. aviculare* expuestas a un ambiente de maduración de mayor temperatura presentaron un menor nivel de dormición primaria que aquellas obtenidas de un ambiente de maduración de menor temperatura (Fig. 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7 y S4.2). Cabe señalar que este trabajo no evaluó interacciones con otros factores del ambiente materno, que sin embargo deberían ser consideradas en estudios futuros. Por ejemplo, se sabe que una menor RFA usualmente reduce la dormición de las semillas (incluso en *P.*

aviculare; Ver Capítulo 5). Las variaciones en este factor podrían explicar los menores porcentajes de germinación observados en semillas de plantas crecidas en el campo y expuestas a una mayor RFA (Cuadro 4.1); o el bajo nivel de dormición de semillas obtenidas de cámaras de crecimiento, donde el flujo de fotones fue extremadamente bajo ($\sim 310 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Sin embargo, las variaciones de la radiación incidente fueron de un orden de magnitud similar dentro y entre tratamientos térmicos, lo que permite descartar el efecto de este factor sobre los resultados obtenidos (Cuadro 4.1). Por otro lado, aún cuando sólo se pudo evaluar la germinación a cosecha (Fig. 4.5), el efecto de la temperatura pudo verificarse con semillas obtenidas de un ambiente donde el único factor que varió fue la temperatura post-floración (ensayo en cámaras AT y BT).

Estas variaciones en el nivel de dormición fueron más marcadas cuando las semillas provinieron de invernáculos (Fig. 4.4, 4.5 y 4.8; variación térmica de $\sim 9^\circ\text{C}$) que para aquellas obtenidas de las carpas (Fig. 4.3 y 4.7; variación térmica de $\sim 3^\circ\text{C}$). Esto pudo deberse a las diferencias en la variación térmica entre experimentos y/o al rango de temperaturas explorado por las semillas según el tratamiento aplicado. En este sentido, Springthorpe y Penfield (2015) -y posteriormente Huang et al. (2018)- detectaron que en *A. thaliana* el efecto de la temperatura materna sobre la dormición presenta un comportamiento bifásico, dado por una temperatura umbral de $14\text{-}15^\circ\text{C}$ por debajo de la cual no se detectan efectos sobre la dormición. Llamativamente, las semillas mostraron leves variaciones en la germinación cuando fueron obtenidas de Carpas e Invernáculos a “baja” temperatura (BT). Cuando fueron obtenidas de ambientes de mayor temperatura (Carpa vs Invernáculo AT), las diferencias entre tratamientos fueron más acentuadas (y la germinación fue significativamente superior ante la mayor temperatura del tratamiento Invernáculo AT). Esto podría deberse a que las semillas obtenidas de plantas crecidas en Invernáculos AT hayan explorado un rango térmico (o

una temperatura umbral) dentro del cual (o por encima de la cual) los efectos sobre la dormición resulten más efectivos (lo cual implicaría que la relación entre el nivel de dormición de las semillas y la temperatura materna no sea lineal; Fig. 4.10).

Una mayor temperatura durante el desarrollo y la maduración de las semillas determinó aumentos significativos de la capacidad de las semillas de germinar en oscuridad y luego de un pulso de luz R (Fig. 4.7 y 4.8), lo cual sugiere un efecto sobre la respuesta de tipo LFR. Esto fue particularmente evidente cuando las semillas fueron incubadas a 10/24°C, mientras que a 15 °C se detectaron variaciones más sutiles (de hecho, la germinación fue reducida), lo cual evidencia la existencia de interacciones de tipo sinérgicas en la respuesta de las semillas a la luz y la alternancia térmica, algo que ha sido reportado para otras especies (Vincent y Roberts 1977; Arana et al. 2017). En cambio, no se observaron respuestas de tipo VLFR (i.e. no hubo un incremento de la germinación por encima de aquella registrada en oscuridad luego de un pulso de RL), a pesar de que se ha documentado su existencia en semillas de *P. aviculare* (Batlla y Benech-Arnold 2005). Por otro lado, en coincidencia con resultados obtenidos para *A. thaliana* (Edwards et al. 2016), la temperatura materna afectó la capacidad de las semillas de *P. aviculare* de germinar bajo distintos potenciales osmóticos (Fig. 4.4). Batlla y Benech-Arnold (2004) demostraron que durante la estratificación, las semillas de *P. aviculare* experimentan una gradual disminución en el potencial osmótico por encima del cual pueden germinar, algo detectado también en otras especies. En sintonía, en este trabajo, la capacidad de las semillas de *P. aviculare* para germinar bajo un potencial osmótico reducido aumentó durante la estratificación. Sin embargo, este proceso ocurrió a una tasa que resultó marcadamente superior cuando las semillas provinieron de un ambiente de maduración de mayor temperatura (Fig. 4.4). Las

implicancias de este fenómeno son desconocidas, aunque se ha sugerido que podría aparejar cambios en la dinámica de emergencia a campo.

Un proceso comparativamente menos explorado ha sido el efecto del ambiente materno sobre la inducción en dormición secundaria. En líneas generales, en *P. aviculare* se observó una relación positiva entre la temperatura materna y la tasa de inducción en dormición (Fig. 4.4). Esto difiere con resultados previamente obtenidos en *A. thaliana*, en cuyo caso una menor temperatura de maduración determinó una inducción más rápida (Auge et al. 2015; Edwards et al. 2016). Cabe aclarar que en estos trabajos realizados en *A. thaliana*, la inducción en dormición fue promovida mediante estrés hídrico por lo cual no es posible aseverar que se trate de respuestas diferentes. Resultados semejantes a los observados en este capítulo fueron obtenidos y cuantificados en el Capítulo 2 de la presente tesis, donde semillas de *P. aviculare* obtenidas de una siembra más tardía (y expuestas a una mayor temperatura materna) mostraron una mayor tasa de inducción en dormición secundaria. A diferencia de lo sugerido en otros trabajos, este efecto parecería establecer una sincronización de la dinámica de inducción en dormición de las semillas en el campo, en pos de acotar la emergencia en aquellos períodos donde la producción de semillas se ve fuertemente reducida, en analogía con el efecto de la fecha de siembra de la planta madre sobre la inducción en dormición secundaria detectado y cuantificado en el Capítulo 2.

A pesar de los efectos observados bajo condiciones controladas, los porcentajes de emergencia no difirieron significativamente. Esto pudo deberse a diferentes razones relacionadas con la metodología empleada, tales como: (i) la realización de un bajo número de extracciones en el experimento de campo, (ii) el uso de semillas obtenidas de plantas crecidas en carpas, las cuales mostraron menores variaciones en la germinación que aquellas provenientes de los invernáculos. Más allá de lo señalado, resulta notorio

que los patrones de emergencia sugieren que esta tendió a ser sutilmente mayor cuando las semillas provinieron de Carpas AT que para semillas obtenidas de Carpas BT. Esta sutil tendencia resulta consistente con el efecto de la temperatura materna detectado bajo condiciones controladas.

A pesar de que no se observaron efectos sobre la emergencia, en su conjunto, los resultados descriptos sugieren que semillas de *P. aviculare* maduras bajo temperaturas más “cálidas” presentarían menores requerimientos para germinar que aquellas maduras en ambientes más y “frescos”. Esto podría permitir que semillas maduras y dispersadas más tarde sincronicen su germinación a la de aquellas semillas maduras y dispersadas más tempranamente, conduciendo a una sincronización de la emergencia. Esto claramente va en la dirección de los efectos de la fecha de siembra y del fotoperíodo establecidos en el Capítulo 2 de la presente tesis y coincide con evidencias obtenidas para *A. thaliana* (Burghardt et al. 2016; Edwards et al. 2016).

Futuras investigaciones deberían desarrollarse para analizar la forma en que la temperatura y el fotoperíodo actúan en simultáneo. Aunque no en términos taxativos, distintos trabajos han planteado que la temperatura es el principal factor del ambiente materno responsable de modular el nivel de dormición primaria que las semillas presentan al momento de su dispersión. En este capítulo, las correlaciones y los modelos desarrollados sugieren que el rol de la temperatura materna en relación al efecto de la fecha de siembra sería significativo pero menor al efecto que ejercería el fotoperíodo (Fig. 4.11) -para la especie en estudio y dentro del rango de condiciones exploradas-. Profundizar sobre el alcance de estos efectos podría contribuir a nuestra capacidad de predecir el comportamiento de las comunidades vegetales en contextos variables, así como proyectar posibles respuestas de las plantas al cambio climático.

CAPÍTULO 5

El efecto de la presencia del canopeo sobre la dormición en semillas de *Polygonum aviculare* y su impacto sobre la emergencia a campo

Resumen

La presencia de un canopeo vegetal determina profundos cambios en la cantidad de radiación, la composición de la luz y la temperatura, entre otras variables. Muchos de estos factores han mostrado afectar fuertemente el nivel de dormición primaria que las semillas de numerosas especies presentan al momento de su dispersión de la planta madre. A pesar de ello, el efecto de la presencia de un canopeo ha sido asociado básicamente a las reducciones que este establece sobre la R:RL del ambiente lumínico, lo cual promovería un incremento de los requerimientos de luz de las semillas para germinar. El presente capítulo analiza el efecto de la presencia de un canopeo durante la formación de los frutos de *Polygonum aviculare* en la planta madre sobre el nivel de dormición, las respuestas a luz y los patrones de emergencia a campo de la siguiente generación. A su vez, evalúa el efecto particular de la R:RL y la radiación, los dos factores del ambiente lumínico más afectados por la presencia de un canopeo. Los resultados mostraron que frutos obtenidos de plantas expuestas al canopeo de un cultivo de trigo germinaron más que aquellos de plantas que se mantuvieron aisladas de la cubierta vegetal, lo cual determinó variaciones en la emergencia a campo. Esto fue observado incluso en oscuridad y se asoció a cambios en la transmitancia de los pericarpios (que habrían afectado la relación P_{fr}/P_{total} y el contenido de GAs), variaciones en la resistencia mecánica ofrecida por los pericarpios (las cuales se vieron acompañadas por variaciones en el grosor, la pigmentación y la composición de los mismos), y diferencias en el potencial de crecimiento de los embriones. A diferencia de lo esperado, estos efectos se asociaron a las reducciones que el canopeo determina sobre

la RFA, y no sobre la R:RL de la luz como se ha sostenido ampliamente. Estos resultados evidencian la importancia de avanzar en el estudio de este efecto en pos de indagar sus posibles implicancias ecológicas.

5.1. Introducción

En los capítulos previos, se estudiaron los efectos que determinan sobre la dormición de las semillas el hecho de que las especies anuales emerjan en distintos momentos. Sin embargo, una vez emergida, una misma cohorte de plantas también puede experimentar intensas variaciones en el ambiente impuestas por la presencia de vecinos. Esto determina que, fundamentalmente en contextos donde las comunidades vegetales son densas, las etapas de formación de las semillas en la planta madre tengan lugar bajo condiciones ambientales particulares. Por ejemplo, los canopeos absorben fuertemente la luz en el rango de la radiación UV (280–320 nm para UVB, 320–400 nm para UVA) y de la RFA (400–700 nm), particularmente en las regiones azul y roja del espectro. A su vez, transmiten y reflejan fuertemente la mayor parte del rojo lejano (700–800 nm) e infrarrojo, lo cual determina, por ejemplo, fuertes reducciones de la R:RL en comparación con la luz plena (Holmes y Smith 1977; Schmitt y Wulff 1993; Casal 2013). A su vez, la presencia de un canopeo reduce la temperatura y la amplitud térmica (Thompson et al. 1977), modifica las condiciones de humedad y la disponibilidad de nutrientes en el suelo. Más allá de que la magnitud de estas variaciones son dinámicas y dependen de varias características del sistema (Ballaré et al. 1987; Casal y Smith 1988); la presencia de un canopeo actúa sobre factores del ambiente materno que de manera aisladas han mostrado tener un marcado efecto sobre el nivel de dormición de las semillas a la dispersión (Fenner 1991). Por lo tanto, cabe preguntarse de qué manera la presencia de un canopeo puede afectar el nivel de dormición de las semillas al momento de su dispersión.

Aunque, como se explicó anteriormente, la presencia de un canopeo modifica distintas variables del ambiente (o micro-ambiente), su efecto en relación al ambiente materno ha sido generalmente asociado a la disminución que determina en la R:RL del ambiente lumínico. La hipótesis principal ha consistido en que la baja R:RL de la luz transmitida por un canopeo determinaría una predominancia de fitocromos en el estado inactivo (Pr) en las semillas a la dispersión y, por lo tanto, un aumento de los requerimientos de luz para germinar. Esta hipótesis alcanzó cierto grado de aceptación dado que en experimentos donde se manipuló la R:RL, fundamentalmente en *Arabidopsis thaliana*, se detectó una relación fuertemente negativa entre esta variable y la capacidad germinativa de las semillas (McCullough y Shropshire 1970; Hayes y Klein 1974; Cresswell y Grime 1981; Benvenuti y Macchia 1997; Hinsberg 1998; Gutterman 2000; Brainard et al. 2005). Otra fuente de sustento ha sido considerada la importante cantidad de trabajos que muestran que la presencia de un canopeo inhibe la germinación de semillas dispersadas y embebidas, a través del efecto que ejerce nuevamente sobre la R:RL (Cumming 1963; Fenner 1980*a,b*). Sin embargo, no hay trabajos que muestren que se traten procesos comunes en condiciones naturales. A su vez, si bien bajo condiciones controladas se ha verificado que una menor R:RL durante la formación de las semillas aumenta los requerimientos de luz de las mismas para germinar, las implicancias que este efecto podría tener sobre los patrones de emergencia de las malezas en el campo son desconocidas.

A diferencia de lo descripto mayormente en la bibliografía, una serie de trabajos recientemente detectaron que la presencia de un canopeo simulado con filtros durante la formación de las semillas de *A. thaliana* disminuye el nivel de dormición de las semillas cosechadas (Leverett et al. 2016; Vayda et al. 2018). Estos resultados sugieren que la influencia del canopeo incluiría la participación de otros factores más allá la R:RL de la

luz. En este sentido, y a pesar de ser relevantes, las variaciones que los canopeos imponen sobre otras variables del ambiente lumínico, como la RFA u otros factores como la temperatura han sido menos abordadas. Esto demuestra la necesidad de profundizar nuestro conocimiento acerca del efecto de la presencia de un canopeo en especies cuyas semillas presenten cambios en su nivel de dormición ante variaciones en las condiciones del ambiente materno. Por ello, este capítulo tuvo por objetivos estudiar la influencia del ambiente impuesto por el canopeo de un cultivo durante la formación de los frutos de *P. aviculare*, así como el rol individual y combinado de la RFA y la R:RL, sobre: (i) el nivel de dormición, (ii) la respuesta de los frutos a la luz y (iii) los patrones de emergencia a campo. Adicionalmente, se analizó la influencia que ejerce la presencia de un canopeo vegetal sobre los componentes del fruto que imponen la dormición. El uso de esta especie permite a su vez, considerar el efecto de la temperatura (analizado en el Capítulo 4 de la presente tesis), factor que también es modificado por la presencia de un canopeo.

5.2. Materiales y métodos

5.2.1. Experimentos de ambiente materno

Distintos experimentos (Fig. 5.1) fueron realizados durante tres años consecutivos en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (34° 25' S, 58° 25' O).

5.2.1.1. *Exposición de las plantas durante sus etapas reproductivas a las variaciones del micro-ambiente impuestas por un canopeo*

Plantas de *P. aviculare* (en adelante, plantas madre) fueron crecidas en macetas hasta floración, cuando fueron enterradas en el suelo debajo (“CC”), o fuera (“SC”) de un canopeo de un cultivo de trigo en macollaje (~Z2.4, según escala Zadoks; Fig. 5.1). Se utilizaron cuatro réplicas conformadas por cinco plantas madre cada una, las cuales se

sembraron el 22 de julio (2016) y el 2 de junio (2017). Las parcelas de trigo (1,2 m x 5 m) fueron sembradas a razón de ~ 250 pl m^{-2} (17,5 cm entre hileras, orientación norte-sur), el 28 de junio de 2016 y el 24 de mayo de 2017. En 2018, se realizó otro experimento similar, pero las plantas madre fueron expuestas a partir de floración a tres densidades de cultivo (en $\sim Z2.4$): ~ 250 (“CCAD”), ~ 12 (“CCBD”) y 0 (“SC”) pl de trigo m^{-2} (25 cm entre filas, orientación norte-sur). Se utilizaron cuatro réplicas, conformada cada una por tres plantas de *P. aviculare*. El trigo se sembró el 3 de julio y *P. aviculare*, el 27 de junio. El procedimiento llevado a cabo con las plantas madre fue el mismo que el realizado en años anteriores. Adicionalmente, plántulas de *P. aviculare* emergidas espontáneamente en las parcelas del cultivo fueron marcadas (“CCAD” y “SC” según el grado de exposición al canopeo) y cosechadas. En este caso, siete réplicas conformadas por cinco plantas cada una fueron utilizadas.



Figura 5. 1. Vista de experimentos que consistieron en exponer a las plantas de *P. aviculare* a canopeos de cultivos de trigo sembrados a distintas densidades, mediasombras que redujeron la RFA y filtros que afectaron la R:RL del ambiente lumínico a partir de floración.

5.2.1.2. Exposición de las plantas a variaciones en la cantidad de radiación incidente durante la etapa reproductiva

Plantas de *P. aviculare* fueron expuestas a niveles contrastantes de RFA a partir de floración. Para ello, se instalaron redes de mediasombra que variaron la RFA sin afectar la composición espectral (Fig. 5.1). Las redes (tratamiento “ \downarrow RFA”) se instalaron por encima y alrededor de las plantas utilizando estructuras cilíndricas ubicadas a 30 cm una sobre la otra, sostenidas por estacas. Los controles (“RFA”) crecieron con las mismas

estructuras, sin las redes. Se utilizaron cuatro réplicas conformadas por cuatro plantas cada una, las cuales se sembraron el 22 de julio y el 30 de noviembre de 2016. Además, en 2018, se instalaron mediasombras montadas en estructuras prismáticas de madera sobre plantas cultivadas fuera y dentro del cultivo de trigo sembrado a una densidad de 12 pl m^{-2} ("CCBD+↓RFA"). Cuatro estructuras con tres plantas se repartieron aleatoriamente dentro y fuera de las parcelas de trigo.

5.2.1.3. Exposición de las plantas a variaciones en la R:RL durante la etapa reproductiva

Plantas de *P. aviculare* dispuestas en macetas fueron expuestas diferentes R:RL a partir de floración. En 2017, las plantas se cultivaron en el campo hasta floración, cuando se transfirieron a un invernáculo con control de temperatura para ser crecidas bajo filtros "lavanda especial E-Color #137" (Cinestore, Buenos Aires, Argentina; Fig. 5.1) que redujeron la R:RL ("↓R:RL") y filtros neutros que no afectaron la composición espectral de la luz (R:RL natural, "R:RL"). En el tratamiento control, se aplicaron también mediasombras, para igualar el flujo de fotones lograda en "↓R:RL". Adicionalmente, un grupo de plantas se cultivó en el invernáculo sin filtros ni redes ("Sin filtros"). En 2018, se realizó un experimento similar pero bajo condiciones de campo. En ambos ensayos, los filtros se dispusieron sobre estructuras prismáticas de madera, cubriendo las caras laterales y superior (2017) o sólo las caras laterales (2018). Se utilizaron cuatro réplicas conformadas por tres (2017) y dos plantas (2018), las cuales se sembraron el 10 de junio y el 27 de junio, respectivamente.

Para generar las plantas de *P. aviculare* que se utilizaron en los experimentos descriptos (secciones 5.2.1.1 a 5.2.1.3) se recolectaron semillas en Balcarce, Buenos Aires (37° 45 'S, 58° 18 'O) en marzo de 2016, 2017 y 2018. Semillas estratificadas a 4,8 °C fueron germinadas a 10/24 °C para obtener plántulas. Luego las plantas se

cultivaron en macetas de 15 dm³ (suelo, arena y perlita, 3: 2: 1) y sólo se utilizaron aquellas que florecieron dentro de una misma semana. A floración, las macetas fueron trasladadas a cada uno de los tratamientos maternos descritos. En los ensayos a campo, las macetas fueron enterradas dejando su base superior al ras del suelo. Para retener los frutos dispersados naturalmente, las plantas se envolvieron en una bolsa de tul transparente. Se realizaron cosechas cada 10/15 d. El material cosechado y acondicionado fue almacenado en bolsas (< 3 d) hasta el inicio de los experimentos de post-maduración.

Las variables ambientales se midieron por encima y debajo de las plantas y estructuras: temperatura (DAT-10, Datalogger de temperatura y humedad, Schwyz, China), calidad de la luz (sensor SKR 110 660/730, Skye Instruments Ltd., Gales) y radiación (sensor cuántico LI-COR Inc., USA). La radiación y la temperatura del aire se registraron en una estación meteorológica ubicada a 20 m del sitio experimental. La transmisión de filtros y cultivos (en la longitud de onda 250-750) se midió con un espectrorradiómetro (HHFieldSpec, Analytical Spectral Devices, Boulder, CO, USA).

5.2.2. Experimentos de post-maduración

5.2.2.1. Dormición primaria

En este capítulo se referirá al fruto de *P. aviculare* dado a que se analizará el rol de los distintos componentes del mismo en la imposición de dormición (Ver capítulo 1). El experimento 1 (E1) tuvo por objetivo determinar el efecto de la presencia del cultivo, las variaciones en la radiación incidente y en la R:RL sobre el nivel de dormición de los frutos de *P. aviculare*. Para ello, los frutos cosechados de los distintos tratamientos de ambiente lumínico fueron estratificados a 4,7±0,62 °C durante 0, 10, 25, 50 y 75 d, cuando la germinación se evaluó a 15 y/o 10/24 °C. Aquellos frutos obtenidos de plantas expuestas al canopeo y plantas dispuestas en espacios sin vegetación (aisladas)

fueron adicionalmente incubados a 0, 2, 5, 10, 15 y 20 °C desde cosecha hasta que la germinación alcanzó un claro plateau.

El experimento 2 (E2) buscó analizar la respuesta de los frutos a la luz post-dispersión. Los frutos cosechados fueron estratificados a 4,7 °C por 0, 10, 25, 50 y 75 d, cuando la germinación se evaluó a 15 y 10/24 °C, tras ser expuestos a (i) 20 min de luz R (con una intensidad de $28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), (ii) 20 min de luz RL (con una intensidad de $32 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) u (iii) oscuridad constante (Batlla y Benech-Arnold 2005).

5.2.2.2. Componentes de cubiertas y embrionarios que determinan el nivel de dormición del fruto

El Experimento 3 (E3) buscó analizar el rol de las cubiertas y de los embriones en los efectos detectados ante cambios en el micro-ambiente impuesto por la presencia del canopeo. Los frutos fueron estratificados durante 0, 7 y/o 10 d a 4,7 °C, cuando se evaluó la germinación de: frutos, frutos con pericarpio perforado, frutos con pericarpio raspado a la altura de la radícula, semillas (i.e. embriones con endosperma y cubierta), semillas de frutos expuestos a diferentes tratamientos de ambiente lumínico con pericarpios intercambiados y embriones aislados. Las pruebas se realizaron a 0, 5, 15, 25 y/o 10/24 °C y bajo distintos potenciales osmóticos generados usando PEG 6000. Además, para analizar posibles variaciones en la permeabilidad de las cubiertas, frutos de plantas expuestas a un canopeo y plantas que se mantuvieron aisladas fueron incubados a 15 °C desde cosecha para determinar la dinámica de imbibición hasta el inicio de la germinación.

5.2.2.3. Patrones temporales de emergencia a campo

El Experimento 4 (E4) buscó analizar si la presencia de un canopeo, las variaciones en la RFA y los cambios en la R:RL inciden sobre la emergencia a campo. Para ello, los frutos fueron enterrados a cosecha y la emergencia fue evaluada periódicamente. Los

frutos obtenidos de plantas expuestas al canopeo de un cultivo y plantas aisladas se extrajeron del suelo el 6 de junio, el 7 de agosto y el 12 de octubre (2018). Luego de la extracción, los frutos fueron expuestos por 10 min a: (i) luz solar directa, (ii) luz filtrada a través de un canopeo de cebada con el objetivo de exponer las semillas a un ambiente con una baja R:RL, u (iii) oscuridad con remoción del suelo (i.e. durante la exhumación). A su vez, se adicionó otro tratamiento (iv), el cual consistió en registrar la emergencia en cilindros expuestos a (iii) pero sin realizar remoción del suelo (i.e. sin exhumar los frutos). Frutos obtenidos del experimento de radiación incidente se extrajeron el 1 de abril, el 10 de junio, el 18 de julio, el 23 de agosto, el 15 de septiembre, el 15 de noviembre y el 20 de enero (2016), mientras que los de calidad de luz (R:RL), el 20 de agosto (2018). Estos frutos sólo fueron expuestos a (i).

5.2.3. Condiciones de post-maduración

La metodología empleada para la post-maduración en laboratorio y a campo fue descrita en detalle en el Capítulo 2 (Ver materiales y métodos). Al final de la estratificación (50-75 d), se verificó la viabilidad de los frutos no germinados ($96,6 \pm 1,1\%$) mediante la incubación de estos en una solución de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio al 1% (p/v) durante 24 horas a 25 °C y la inspección de la tinción de los embriones. En el experimento a campo, se extrajeron bolsas adicionales para verificar la viabilidad de los frutos mediante pruebas de germinación a 10/24 °C. Durante la estratificación y el entierro de las semillas en el campo se registró temperatura y humedad del sustrato por hora a 5 cm de profundidad (DAT-10, Dataloggers de temperatura y humedad, China; Decagon, Em5b Datalogger, USA).

5.2.4. Pruebas de germinación y emergencia

Las pruebas de germinación (E1, E2 y E3) se realizaron siguiendo la metodología descrita en el Capítulo 2, en una habitación oscura bajo luz fluorescente verde de baja

intensidad. Se colocaron 45-55 frutos en placas sobre dos discos de papel humedecidos con agua destilada o una solución de PEG que redujo el potencial osmótico de 0 (agua destilada) a -5 BAR. Luego, los frutos se expusieron a un pulso de 15 min de R, o 20 min de R y RL cuando se evaluó la respuesta de los frutos a la luz (<20 °C). Posteriormente, las placas se envolvieron con un plástico negro y se incubaron por 15 d en oscuridad en incubadoras a la temperatura indicada para cada caso. En tratamientos de oscuridad, las placas primero se envolvieron con el plástico negro y luego fueron expuestas envueltas a 20 min a luz R. La germinación se midió a diario, salvo cuando se analizó la respuesta de los frutos a la luz (R, RL u oscuridad), en cuyo caso se registró a los 15 d de incubación. Al final de cada prueba se evaluó viabilidad mediante la compresión e inspección visual de los frutos remanentes (<5%). Las soluciones PEG (Fluka, Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) fueron preparadas según Michel (1983), y los valores de potencial se verificaron con un osmómetro de presión de vapor (VAPRO 5520, Wescor Inc., Utah, USA). A diario se cambiaron los filtros con solución PEG para mantener constante el potencial osmótico del medio (Ni y Bradford 1992).

Para el ensayo de emergencia a campo (E4), los frutos extraídos (700 por bolsa) se dispusieron en placas que contenían agua destilada y se expusieron por 10 min a la luz, un canopeo de cebada u oscuridad. Luego, los frutos fueron dispersados dentro de un área delimitada por cilindros de PVC y cubiertos con tierra ~3 cm. Cada prueba duró 45 d en los cuales los cilindros se regaron y desmalezaron manualmente. La cebada se sembró en macetas de 10 cm³ el 25 de abril, el 6 de junio y el 2 de septiembre. Durante las extracciones, las macetas que contenían a las plantas de cebada (~V6) se enterraron alrededor de los cilindros asignados a este tratamiento y las semillas extraídas y dispuestas en las placas se expusieron a este ambiente lumínico durante 10 min. Luego las semillas se enterraron en los cilindros de PVC. Se midió la R:RL arriba y debajo de

las plantas de cebada (sensor SKR 110 660/730, Skye Instruments Ltd., Gales). Para el tratamiento de oscuridad con remoción, durante la exhumación se utilizaron carpas portátiles cubiertas con 4 capas de nylon negro (la condición de oscuridad en las carpas se verificó utilizando un medidor de luz; LM-8010, Lutron, Taiwán). En el ensayo de oscuridad sin remoción, la base de los cilindros se cubrió con una malla de nylon que permitió de recuperar los frutos que no germinaron. La temperatura y el contenido de agua del suelo se registraron a 3 cm de profundidad (Decagon, Em5b Datalogger, USA).

5.2.5. Transmitancia de las cubiertas y valores de P_{fr} : P_{total}

Se extrajeron pericarpios de frutos de plantas expuestas al canopeo de un cultivo (CCAD) y plantas aisladas (SC), previamente incubados durante 12 h a 15 °C en agua destilada. Los frutos (4 réplicas por tratamiento, 15 repeticiones por réplica) fueron montados individualmente sobre una fibra óptica OceanOptics UV-Vis (Duiven, Países Bajos) de 200 μm de diámetro, la cual se conectó a un espectrómetro de alta resolución calibrado (HR4000, Ocean Optics, 220-1100 nm, Duiven, Países Bajos). Las mediciones se realizaron bajo luz solar directa a horas del mediodía. Los pericarpios se mantuvieron húmedos durante las mediciones. Las mediciones obtenidas fueron utilizadas para calcular contenidos relativos de P_{fr} y P_r de las semillas, mediante los parámetros obtenidos por Kelly y Lagarias (1985).

5.2.6. Estructura del fruto

Se realizaron cortes histológicos y mediciones del grosor de pericarpios utilizando cuatro réplicas de 30 frutos obtenidos de plantas crecidas bajo un canopeo (CCAD) y plantas aisladas (SC), embebidos en FAA a cosecha. Como se describió en el Capítulo 3, tres porciones de la parte central de los frutos se incluyeron en parafina y se cortaron en serie a 10-12 μm con un microtomo rotatorio. Las secciones se tiñeron con safranina de color verde y se montaron en bálsamo de Canadá para fotografiar la estructura del

aqueno (microscopio óptico Zeiss Axioplan, Oberkochen, Alemania) y analizarlo con el software Zeiss AxioCamERc 5s (Jena, Alemania).

5.2.7. Determinación de Polifenoles totales

La determinación de polifenoles totales en frutos de *P. aviculare* se realizó por el método de Folin-Ciocalteu, según lo especificado en la Norma ISO 14502-1 (2005). Los frutos de los tratamientos SC (Sin cultivo), CCBD (Con cultivo sembrado a baja densidad) y CCAD (Con cultivo sembrado a alta densidad) fueron molidos a polvo fino y se prepararon extractos metanólicos que fueron llevados a sequedad y luego suspendidos en agua. Se utilizó ácido gálico como estándar de referencia.

5.3. Resultados

5.3.1. Condiciones ambientales durante el crecimiento de las plantas y producción de semillas

La presencia del canopeo de un cultivo de trigo determinó cambios en el ambiente (Cuadro 5.1) y mermas significativas en la producción de frutos por planta (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$; Fig. 5.2). La RFA y la temperatura diaria fueron, en promedio, menores para las plantas crecidas desde floración debajo de un canopeo en comparación con lo experimentado por aquellas que se mantuvieron aisladas. Una densidad de 12 pl de trigo m^{-2} fue suficiente para modificar estas variables (Cuadro 5.1). De hecho, esta densidad determinó condiciones lumínicas y térmicas más cercanas al ambiente impuesto por el cultivo sembrado a ‘alta’ densidad (~ 250 pl de trigo m^{-2}) que al ambiente sin cultivo. Además, el canopeo modificó la composición espectral de la luz (Fig. 5.3), fundamentalmente en la longitud de onda de luz R (600-700 nm) y RL (700-800 nm); determinó una alta absorción de las bandas de longitud de onda azul y R, una baja absorción del amarillo y el verde y una transmisión casi total del RL; la R:RL descendió en proporciones variables pero consistentes entre años (Cuadro 5.1).

Cuadro 5. 1. Valores promedio (\pm DE) de variables ambientales medidas durante la formación de los frutos de *P. aviculare*.

Tratamiento	Referencia	Temperatura media diaria ($^{\circ}$ C)	Fotoperíodo promedio (h)	RFA (%)	R:RL
Sin canopeo (2016)	SC	20,34 \pm 4,74	14,43	100%	1,17 \pm 0,02
Con canopeo (2016)	CCAD	14,48 \pm 3,42		51,21 \pm 12,79	0,64 \pm 0,08
Sin canopeo (2017)	SC	19,16 \pm 4,23	14,36	100%	1,16 \pm 0,02
Con canopeo (2017)	CCAD	12,02 \pm 3,01		44,65 \pm 11,27	0,59 \pm 0,15
Sin canopeo (2018)	SC	18,98 \pm 5,23	14,30	100%	1,13 \pm 0,03
Con canopeo (2018)	CCAD	11,44 \pm 2,02		39,07 \pm 12,25	0,44 \pm 0,14
Con canopeo a baja densidad (2018)	CCBD	13,72 \pm 3,71		62,03 \pm 13,06	0,57 \pm 0,12
RFA control= Sin canopeo (2016) ¹	RFA	20,34 \pm 4,74	14,43	100%	1,17 \pm 0,02
RFA reducida (2016) ¹	↓RFA	11,79 \pm 2,96		40,02 \pm 1,66	1,17 \pm 0,02
RFA control= Sin canopeo (2016) ²	RFA	24,04 \pm 4,76	14,16	100%	1,16 \pm 0,04
RFA reducida (2016) ²	↓RFA	15,48 \pm 3,06		40,23 \pm 1,74	1,16 \pm 0,05
RFA control= Sin canopeo (2018)	RFA	18,98 \pm 5,23	14,30	100%	1,13 \pm 0,03
RFA reducida (2018)	↓RFA	14,13 \pm 4,18		66,12 \pm 3,32	1,16 \pm 0,08
Canopeo a baja densidad y MS (2018)	CBD+↓RFA	10,64 \pm 1,23		38,36 \pm 6,96	0,65 \pm 0,16
Plantas sin filtros ni MS (2017)	Sin filtro	20,69 \pm 3,64	14,36	100%	1,14 \pm 0,09
R:RL Control= RFA control (2017)	R:RL	22,27 \pm 5,12		30,06 \pm 2,12	1,14 \pm 0,09
R:RL reducido con filtros (2017)	↓R:RL	22,88 \pm 5,48		31,09 \pm 2,32	0,39 \pm 0,12
R:RL Control= RFA control (2018)	R:RL	14,13 \pm 4,18	14,30	66,12 \pm 3,32	1,16 \pm 0,08
R:RL reducido con filtros (2018)	↓R:RL	15,23 \pm 4,29		64,34 \pm 2,67	0,84 \pm 0,72

“MS” significa mediasombra. RFA y ↓RFA 2016 (1) refieren a la siembra del 22 de julio, mientras RFA y ↓RFA 2016 (2), a la del 30 de noviembre. Los valores representan la media diaria para toda la etapa considerada \pm desvío estándar.

Cuando la RFA y la R:RL se manipularon individualmente, sus reducciones fueron mayores en 2016 que en 2018 (Cuadro 5.1); en este último año sólo las caras laterales de las estructuras fueron cubiertas con filtros y/o media sombra. En general, el uso de filtros aumentó levemente la temperatura y la aplicación de redes generó reducciones en dicha variable. La incorporación de un sombreo adicional a grupos de plantas expuestas a CCBD permitió exponer a dichas plantas a un nivel de RFA similar a aquel generado por el cultivo de trigo sembrado a alta densidad (CCAD). En relación a los ensayos de calidad de luz, algunos aspectos requieren ser aclarados. Los filtros utilizados para \downarrow R:RL determinaron simultáneamente una reducción de la RFA (Cuadro 5.1). Por ello, en los tratamientos control se utilizaron mediasombras de manera tal de igualar los niveles de radiación entre tratamientos. El tratamiento control R:RL refiere, entonces, al efecto de una reducción de la RFA respecto de plantas aisladas, mientras que \downarrow R:RL refiere al efecto combinado de una menor R:RL y RFA.

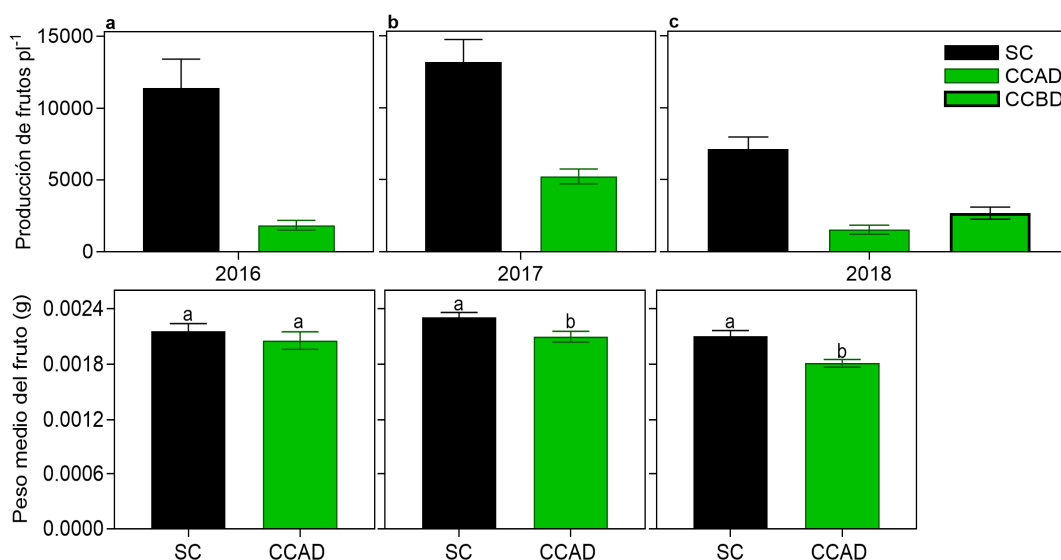


Figura 5. 2. Arriba: Producción de frutos por planta de *P. aviculare* para cada estación de crecimiento. Abajo: Peso medio del fruto de *P. aviculare* para cada estación de crecimiento. Las plantas fueron crecidas aisladas (SC-Sin cultivo) o debajo del canopeo de un cultivo sembrado a alta (CCAD-Con cultivo a alta densidad) o baja densidad (CCBD-Con cultivo a baja densidad) en (a) 2016, (b) 2017 y (c) 2018. Las columnas representan la media y las barras verticales, el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$) según la prueba de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStatGroup, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

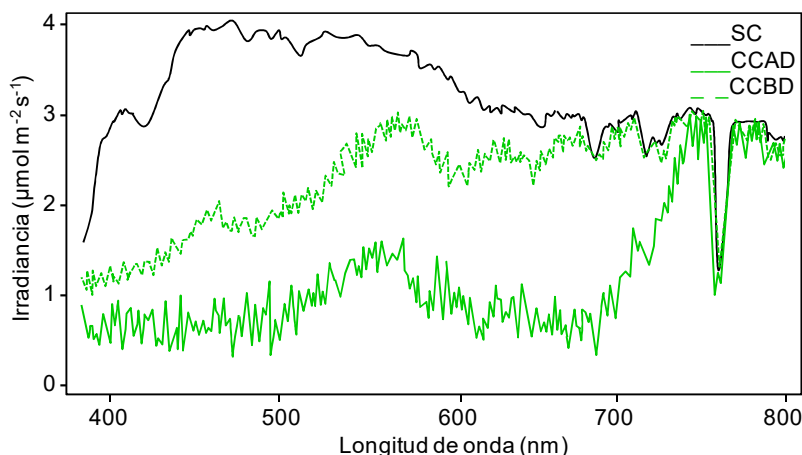


Figura 5. 3. Composición espectral de la luz medida fuera (SC) y debajo del canopeo de cultivos de trigo sembrados a baja (CCBD) y alta (CCAD) densidad.

5.3.2. Efectos sobre el nivel de dormición y la respuesta de los frutos a la luz

Los frutos que maduraron bajo el canopeo de un cultivo germinaron más que los obtenidos de plantas que se mantuvieron aisladas (Fig. 5.4a), incluso cuando el cultivo fue sembrado a una baja densidad de 12 pl m^{-2} . Las variaciones en la germinación se observaron a cosecha (como se ve a $10/24^\circ\text{C}$; Fig. 5.4a) y durante la estratificación. De hecho, una importante proporción de frutos que maduraron bajo el canopeo germinaron *in situ* durante el proceso de estratificación (como indican las columnas en la figura 5.4b). Por otro lado, cuando los frutos fueron incubados por tiempos prolongados bajo distintas temperaturas constantes (de $0\text{-}15^\circ\text{C}$, ya que a 20°C la germinación fue nula; Fig. 5.5), se observaron diferencias en el tiempo requerido para que distintas fracciones germinaran. Por ejemplo, a 2°C , el tratamiento CCAD alcanzó el 50% de la germinación ~ 16 d antes que los del tratamiento SC (Fig. 5.5b). Efectos similares fueron detectados cuando se evaluó la germinación de frutos cosechados de plantas de *P. aviculare* emergidas espontáneamente en los ensayos (Fig. S5.1).

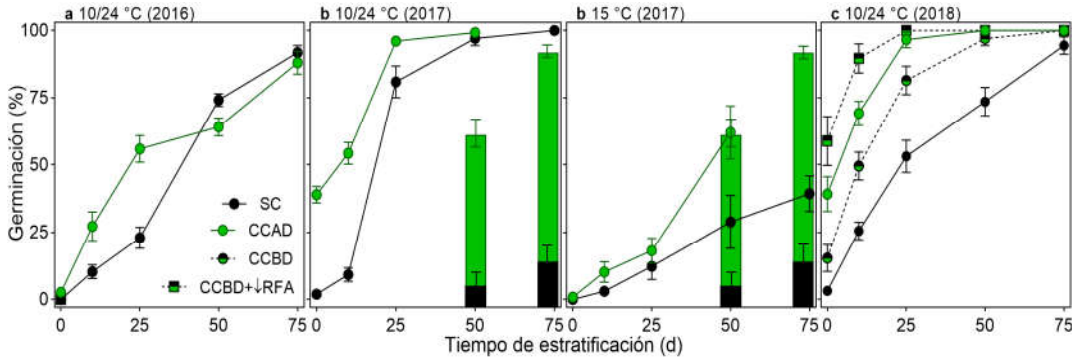


Figura 5. 4. Germinación final (%) de frutos de *P. aviculare* incubados a 10/24 °C o a 15 °C durante 15 d luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,7 °C. Los frutos se obtuvieron de plantas expuestas a un canopeo de un cultivo sembrado a 250 pl m⁻² (CCAD-Con cultivo a alta densidad), 12 pl m⁻² sin (CCBD-Con cultivo a baja densidad) y con sombreado adicional (CCBD+RFA-Con cultivo a baja densidad y mediasombra) o plantas que se mantuvieron aisladas (SC-Sin cultivo) en (a) 2016, (b) 2017 y (c) 2018. En (b), las columnas verdes (CCAD) y negras (SC) muestran la germinación registrada en las bolsitas que contenían las semillas al momento de la exhumación (i.e. semillas germinadas durante el periodo de entierro). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

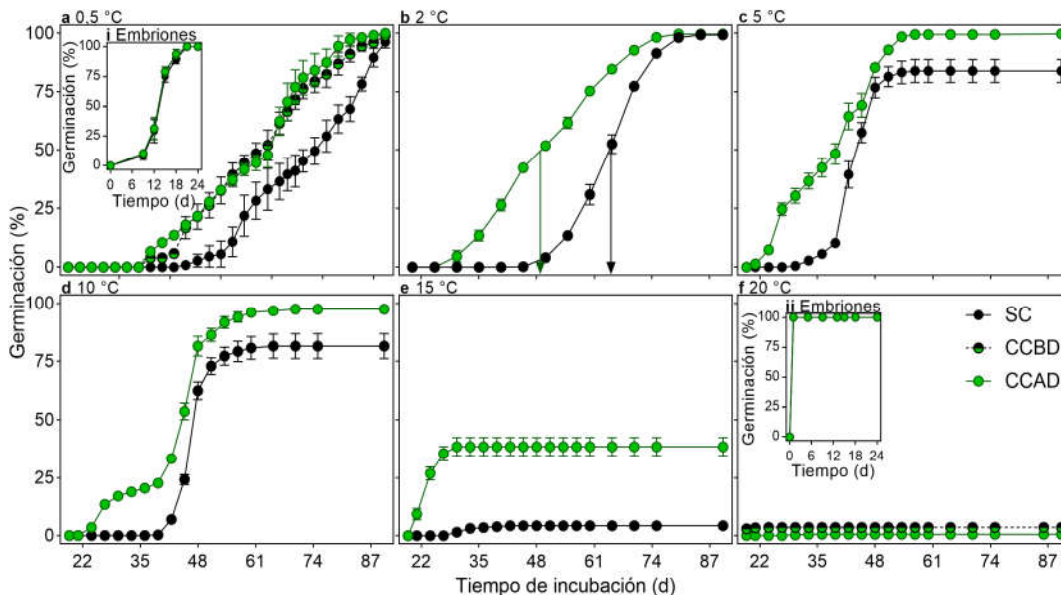


Figura 5. 5. Germinación acumulada (%) de frutos de *P. aviculare* incubados a (a) 0,5, (b) 2, (c) 5, (d) 10, (e) 15 y (f) 20 °C hasta que la germinación mostró un claro plateau. Los frutos se obtuvieron de plantas expuestas a canopeo (CCAD-Con cultivo a alta densidad) y en (a) CCBD-Con cultivo a baja densidad) o plantas aisladas (SC-Sin cultivo), 2017. En (b), las fechas indican el tiempo al 50% de germinación para CCAD (verde) y SC (negro). Las figuras insertas (i) y (ii) representan la germinación de embriones a 0 y 25 °C. Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

Independientemente del tratamiento (SC o CCAD), la germinación fue similar en oscuridad o luego de un pulso de RL (i.e. no se observó una respuesta VLFR) y fue mayor luego de un pulso de R (Fig. 5.6a). Frutos de plantas aisladas germinaron

significativamente sólo luego de un pulso de R a 10/24 °C (en respuesta al RL y en oscuridad germinaron menos del 20%). La exposición al canopeo aumentó la germinación y redujo las diferencias observadas entre tratamientos lumínicos y oscuridad constante, dentro y entre regímenes de incubación (i.e. 15 vs 10/24 °C). Esto pudo verificarse hasta los 50 d de estratificación debido a la germinación de los frutos del tratamiento CCAD durante el entierro (Fig. 5.6a), lo cual, no obstante, evidenció más claramente la mayor capacidad de germinar en oscuridad de aquellos frutos que maduraron bajo la presencia de un canopeo.

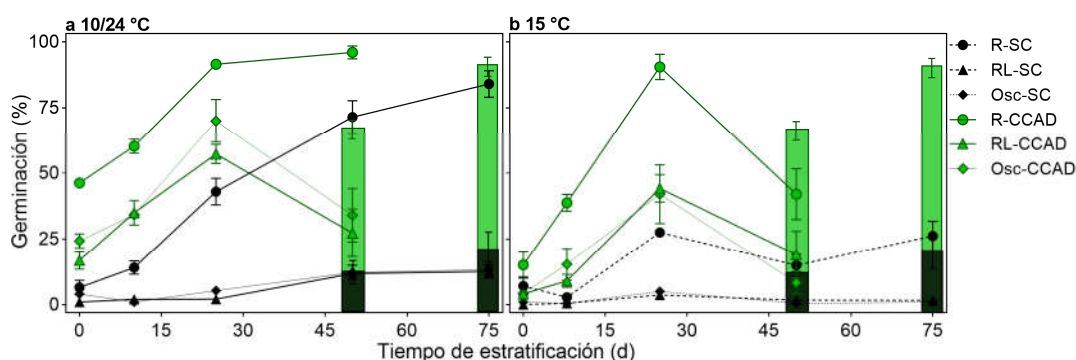


Figura 5. 6. Germinación final (%) de frutos de *P. aviculare* estratificados 0, 10, 25, 50 y 75 d a 4,7 °C e incubados a (a) 10/24 o (b) 15 °C durante 15 d luego de 20 min de un pulso de R, RL u oscuridad constante. En (a), los frutos provinieron de plantas crecidas bajo de un canopeo (CCAD-Con cultivo a alta densidad) o plantas que se mantuvieron aisladas (SC-Sin cultivo), 2017. Las columnas en (a) y (c) muestran la germinación registrada en las bolsitas que contenían las semillas al momento de la exhumación (i.e. semillas germinadas durante el período de entierro). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

La manipulación artificial del ambiente lumínico determinó diferentes efectos sobre la dormición (Fig. 5.4c y 5.7). El sombreado impuesto a plantas expuestas al CCBD (Fig. 5.4c) y a plantas aisladas del cultivo (Fig. 5.7a) aumentó la germinación en relación a la lograda por frutos de los mismos tratamientos sin sombreado (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$). Más aún, semillas del tratamiento de sombreado impuesto a las plantas expuestas al CCBD mostraron valores de germinación superiores a los observados para el tratamiento de canopeo de alta densidad (CCAD). El tratamiento control R:RL implicó una reducción de la RFA respecto de plantas aisladas, mientras que \downarrow R:RL, una menor

R:RL y RFA (Cuadro 5.1). Por ello, ambos tratamientos germinaron más que los frutos obtenidos de plantas aisladas (Fig. 5.7b). El efecto de \downarrow R:RL se asoció, entonces, a una mayor dormición en frutos formados bajo una menor R:RL y RFA en relación a lo observado en frutos que exploraron sólo una menor RFA.

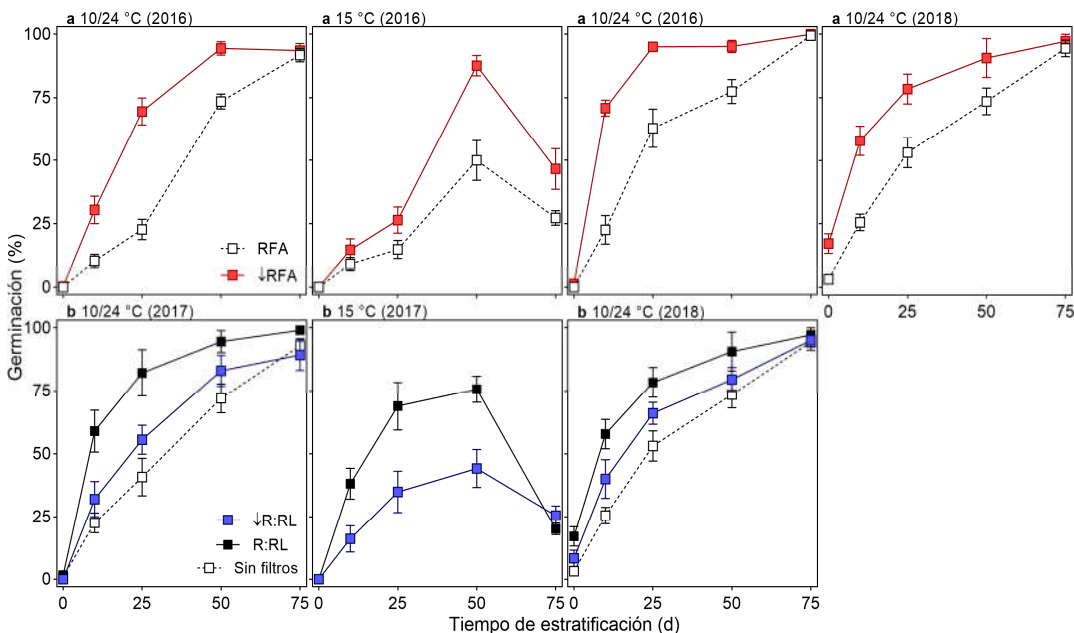


Figura 5. 7. Germinación final (%) de frutos de *P. aviculare* incubados a 10/24 o 15 °C durante 15 d luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d a 4,7 °C. En (a), los frutos se obtuvieron de plantas crecidas bajo dos niveles de RFA (\downarrow RFA y RFA; 2016). En (b), de plantas crecidas bajo distintas R:RL (\downarrow R:RL y R:RL; 2017) y plantas “Sin filtros”. Los años y las temperaturas de incubación se indican sobre cada panel. Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar.

A su vez, variaciones artificiales de la RFA y la R:RL determinaron cambios en las respuestas de los frutos a la luz (Fig. 5.8). En general, la germinación en oscuridad fue similar (i.e. no se observó una respuesta VLFR) o superior a la observada luego de un pulso de RL (ver en la figura 5.8, la germinación de frutos provenientes del tratamiento \downarrow RFA incubados a 15 °C y estratificados 75 d y la de frutos provenientes del tratamiento \downarrow R:RL incubados a 10/24 °C luego de 25 d de estratificación; prueba de Tukey con $P \leq 0,05$), y menor que la lograda luego de un pulso de R a 10/24 y 15 °C. Una menor RFA aumentó la germinación (Fig. 5.8a) en todas las condiciones evaluadas (R, RL, oscuridad). El tratamiento control R:RL (que redujo la RFA más que el

tratamiento \downarrow RFA; Cuadro 5.1) aumentó la germinación en oscuridad y luego de un pulso de RL en relación a lo detectado en frutos de plantas aisladas (Fig. 5.8b), incluso más que el tratamiento \downarrow RFA y de manera comparable a lo generado por la presencia de un cultivo (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$). El tratamiento \downarrow R:RL aumentó los requerimientos de luz para germinar en relación al control R:RL (Fig. 5.8b). Esto se evaluó hasta los 25 d debido a la germinación *in situ* ocurrida durante el proceso de estratificación, la cual fue mayor para el control R:RL que para el tratamiento \downarrow R:RL.

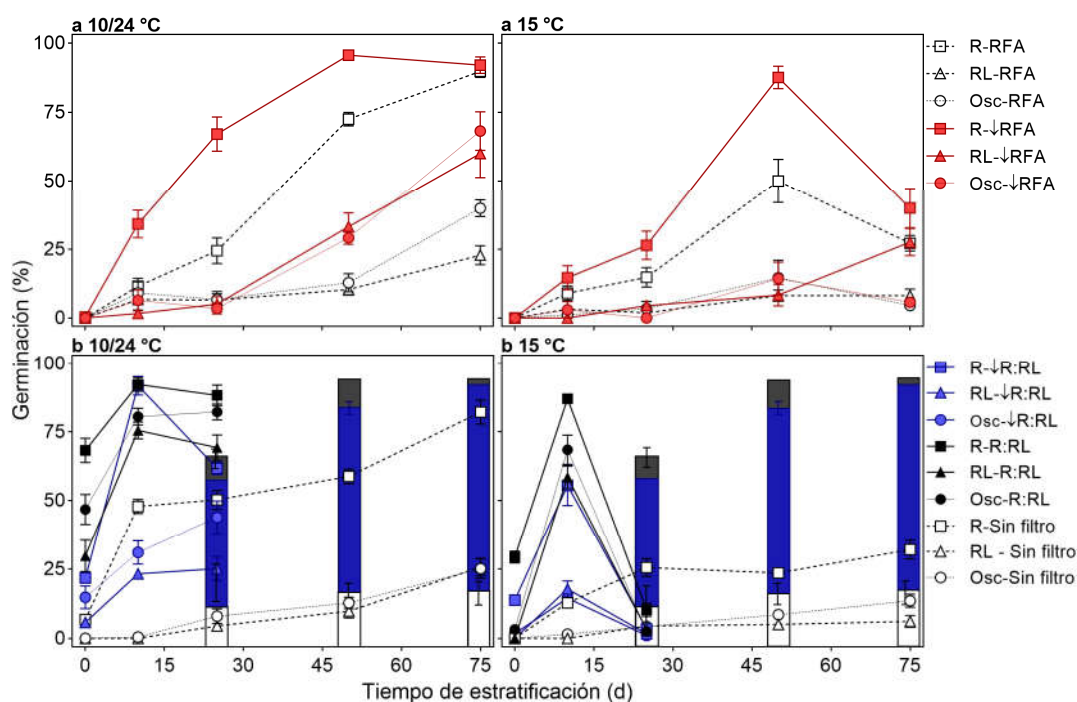


Figura 5. 8. Germinación final (%) de frutos de *P. aviculare* a 10/24 o 15 °C luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d a 4,7 °C luego de 20 min de un pulso de R, RL u oscuridad constante. En (a), los frutos se obtuvieron de plantas crecidas bajo dos niveles de RFA (\downarrow RFA y RFA), 2016. En (b), de plantas crecidas bajo distintas R:RL (\downarrow R:RL y R:RL) y plantas “Sin filtros”, 2017. Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

5.3.3. Evaluación de los componentes de cubiertas y embrionarios que determinan la dormición del fruto

Se realizaron experimentos complementarios para evaluar si las variaciones en el nivel de dormición se asocian a cambios en distintas cualidades de las cubiertas y/o el embrión.

5.3.3.1. Estructura de los frutos

El peso de frutos obtenidos de plantas crecidas bajo un canopeo fue similar o significativamente menor al de los frutos de plantas que crecieron aisladas de la cubierta vegetal (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$; Fig. 5.2). A su vez, los frutos obtenidos de plantas expuestas al canopeo de un cultivo (tratamiento CCAD) presentaron pericarpios con una coloración más clara o traslúcida (de hecho, los embriones se podían ver a través de las cubiertas, como se evidencia en las fotografías de la figura 5.9) y una conformación menos rígida (lo cual les confirió una menor resistencia a la presión ejercida por una aguja o bisturí) que aquellos frutos provenientes de plantas que se mantuvieron aisladas (tratamiento SC).

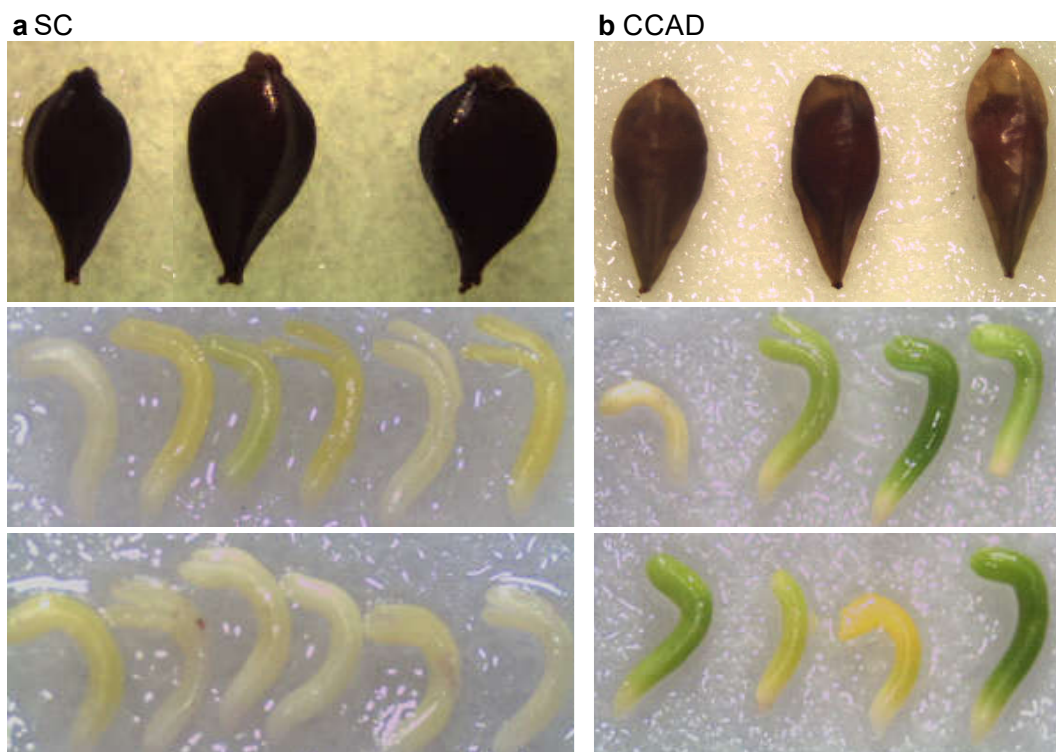


Figura 5. 9. Imágenes de frutos y embriones de *P. aviculare*. El material se obtuvo de plantas crecidas aisladas (SC-Sin cultivo) o debajo del canopeo de un cultivo (CCAD-Con cultivo a alta densidad). El material fue embebido durante 18 h previo a la toma de las fotografías. Las fotografías se obtuvieron utilizando un estereoscopio conectado a una cámara LEICA EZ4 W®.

Para evaluar efectos del canopeo sobre el espesor del pericarpio mediante microscopía óptica, se utilizaron frutos de SC y CCAD. Los pericarpios de frutos

expuestos a un cultivo presentaron un espesor significativamente menor que aquellos de frutos obtenidos de plantas que se mantuvieron aisladas en espacios sin vegetación (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$; Fig. 5.10). Por otro lado, los embriones mostraron diferencias en su coloración en función al ambiente explorado durante el desarrollo y la maduración de los frutos en la planta madre (Fig. 5.9). En general, estos presentaron una coloración verde cuando se obtuvieron de plantas crecidas bajo el canopeo de un cultivo (CCAD) y blancos o amarillentos cuando se cosecharon de plantas que se mantuvieron fuera del canopeo (SC).

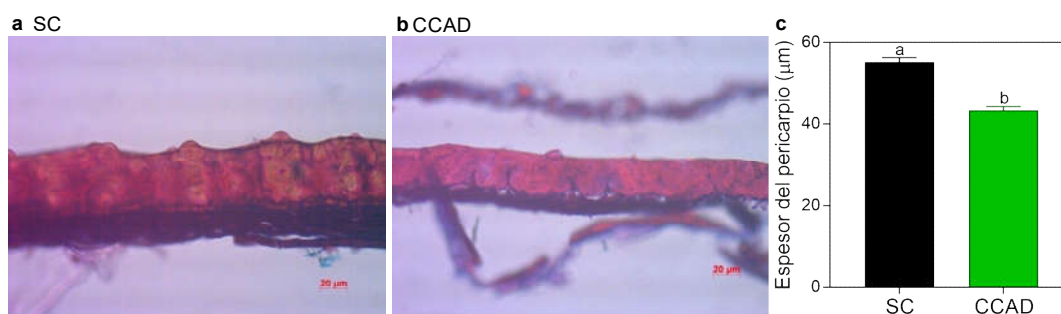


Figura 5. 10. Imágenes del pericarpio de frutos (aquenios) de *P. aviculare* obtenidos de (a) plantas que se cultivaron aisladas (SC-Sin cultivo) o (b) debajo del canopeo de un canopeo (CCAD-Con cultivo a alta densidad). Barra de escala de 20 µm. Las secciones se fotografiaron con un microscopio óptico Zeiss Axioplan (Oberkochen, Alemania) y se analizaron con el software Zeiss AxioCamERc 5s (Jena, Alemania). En (c): Espesor de pericarpios para cada uno de los tratamientos (SC-Sin cultivo y CCAD-Con cultivo a alta densidad). Las columnas representan la media ($n = 4$) y las barras verticales, el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$) según la prueba de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStatGroup, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

5.3.3.2. Contenido de Polifenoles totales

El contenido de Polifenoles totales fue significativamente menor en frutos obtenidos de plantas expuestas al canopeo de un cultivo que para aquellos frutos provenientes de plantas que se mantuvieron aisladas del cultivo (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$; Cuadro 5.2). A su vez, a mayor densidad de siembra del cultivo, menor el contenido de polifenoles de los frutos (CCAD-Con cultivo a alta densidad vs CCBD-Con cultivo a baja densidad).

Cuadro 5. 2. Valores medios obtenidos de polifenoles totales (equivalentes de ácido gálico) expresados en g/100 g de frutos (% P/P). Los frutos fueron obtenidos de plantas de *P. aviculare* que se mantuvieron aisladas (SC-Sin cultivo) o plantas que fueron crecidas bajo un canopeo de un cultivo sembrado a baja (CCBD-Con cultivo a baja densidad) o alta (CCAD-Con cultivo a alta densidad) densidad.

Tratamiento	g/100 g de semillas (% P/P)
SC	1,29±0,06 a
CCBD	0,95±0,09 b
CCAD	0,73±0,01 c

Los valores representan la media (n=4, 2 mediciones por réplica) ± error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias (p<0,05) según la prueba de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStatGroup, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

5.3.3.3. Variaciones en la permeabilidad de las cubiertas

El ambiente impuesto por un canopeo denso (CCAD, 250 pl de trigo m⁻²) determinó aumentos en la velocidad de imbibición de agua y en el porcentaje de agua embebida por el fruto en relación a su peso en comparación con lo observado en frutos de plantas expuestas a canopeo menos denso (CCBD, 12 pl m⁻²) o plantas aisladas (Fig. 5.11).

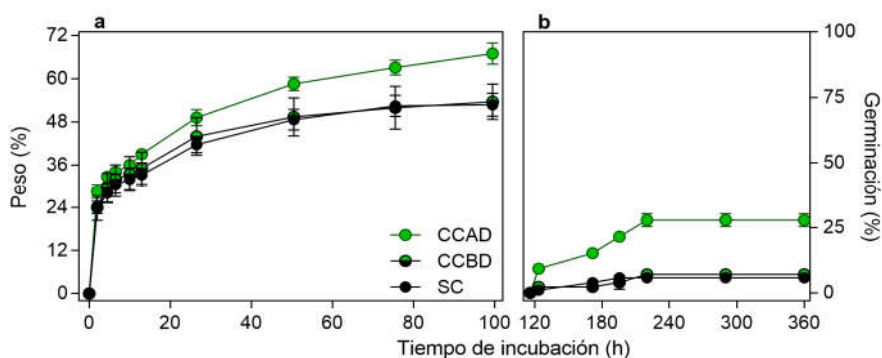


Figura 5. 11. (a) Curvas de imbibición (en % de peso fresco) de frutos de *P. aviculare* incubados a 15 °C durante 100 h, cuando comenzó la germinación. (b) Germinación acumulada (%) de frutos de *P. aviculare* a 15 °C hasta completar 15 d de incubación. Los frutos se obtuvieron de plantas expuestas a un canopeo de un cultivo sembrado a 250 pl m⁻² (CCAD-Con cultivo a alta densidad), 12 pl m⁻² (CCBD-Con cultivo a baja densidad) o plantas que se mantuvieron aisladas (SC-Sin cultivo). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

5.3.3.4. Efectos sobre la transmitancia de las cubiertas y la relación Pfr:Ptotal establecida en los frutos al momento de su dispersión

Se observaron importantes variaciones en la transmitancia de los pericarpios extraídos de frutos recién cosechados de los tratamientos CCAD, CCBD y SC, fundamentalmente en longitudes de onda menores a los 700 nm (Fig. 5.12). Desde los

~470 a los ~700 nm, la transmitancia de los pericarpios se vio incrementada debido a la presencia de un canopeo durante la formación de los frutos (i.e. CCAD>CCBD>SC). En cuanto al contenido de fitocromos, los valores relativos estimados fueron similares para los tratamientos SC y CCBD (Cuadro 5.3), mientras que para el tratamiento CCAD, el contenido de Pfr fue significativamente mayor (Cuadro 5.3) (prueba de Tukey con $P \leq 0,05$).

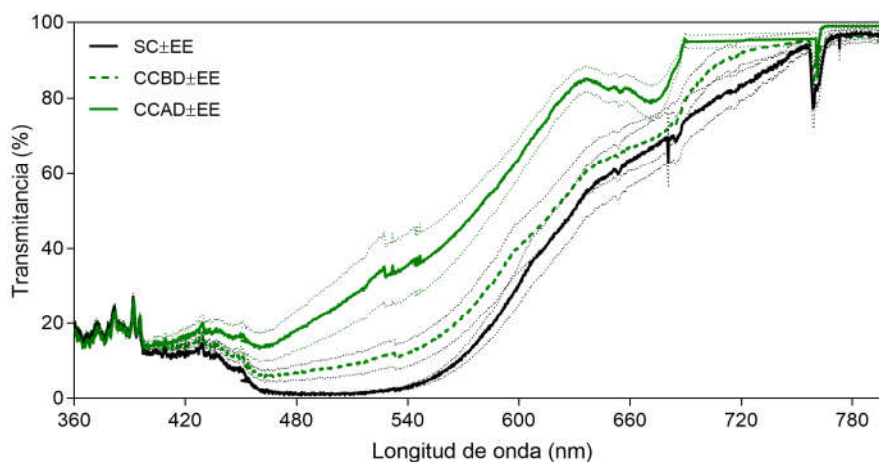


Figura 5. 12. Transmitancia (líneas gruesas) \pm EE (líneas finas) de pericarpios de frutos de *P. aviculare* para diferentes longitudes de onda. Los frutos obtenidos de plantas expuestas a un cultivo de trigo sembrado a razón de 250 pl m⁻² (CCAD-Con cultivo a alta densidad), 12 pl m⁻² (CCBD-Con cultivo a baja densidad) o 0 pl m⁻² (SC-Sin cultivo).

Cuadro 5. 3. Valores relativos de Pfr estimados para frutos de *P. aviculare* obtenidos de plantas crecidas aisladas (SC-Sin cultivo) o bajo un canopeo de un cultivo sembrado a baja (CCBD-Con cultivo a baja densidad) y alta (CCAD-Con cultivo a alta densidad) densidad.

Tratamiento	Pfr/Ptotal (%)
SC	48,91 \pm 10,3a
CCBD	49,74 \pm 10,2a
CCAD	58,91 \pm 6,5b

Los valores representan la media (n=4, 15 estimaciones por réplica) \pm desvío estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$) según la prueba de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStatGroup, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

5.3.3.5. Efecto de la presencia del conopeo de un cultivo sobre los diferentes tejidos que imponen dormición en el fruto

Semillas y embriones aislados alcanzaron el 100% de germinación desde cosecha independientemente de la temperatura de incubación (i.e. a 0,5, 5, 15, 25 °C o 10/24 °C; Fig. 5.5, 5.13, S5.2 y S5.3) y del tratamiento materno (CCAD, CCBD, SC, \downarrow RFA, RFA,

↓R:RL y R:RL). A su vez, aumentos en la germinación del ~20% fueron detectados cuando se realizaron operaciones que consistieron en el raspado del pericarpio a la altura de la radícula de los frutos provenientes de los tratamientos SC, CCBD y CCAD (Fig. S5.2). Cuando se realizó la eliminación del pericarpio a la altura de la radícula, la germinación ascendió al 100% tanto en frutos del tratamiento SC, como en aquellos del tratamiento CCAD (Fig. 5.13g). En cambio, la perforación del pericarpio a la altura de los cotiledones no afectó de manera significativa la germinación (Fig. S5.2).

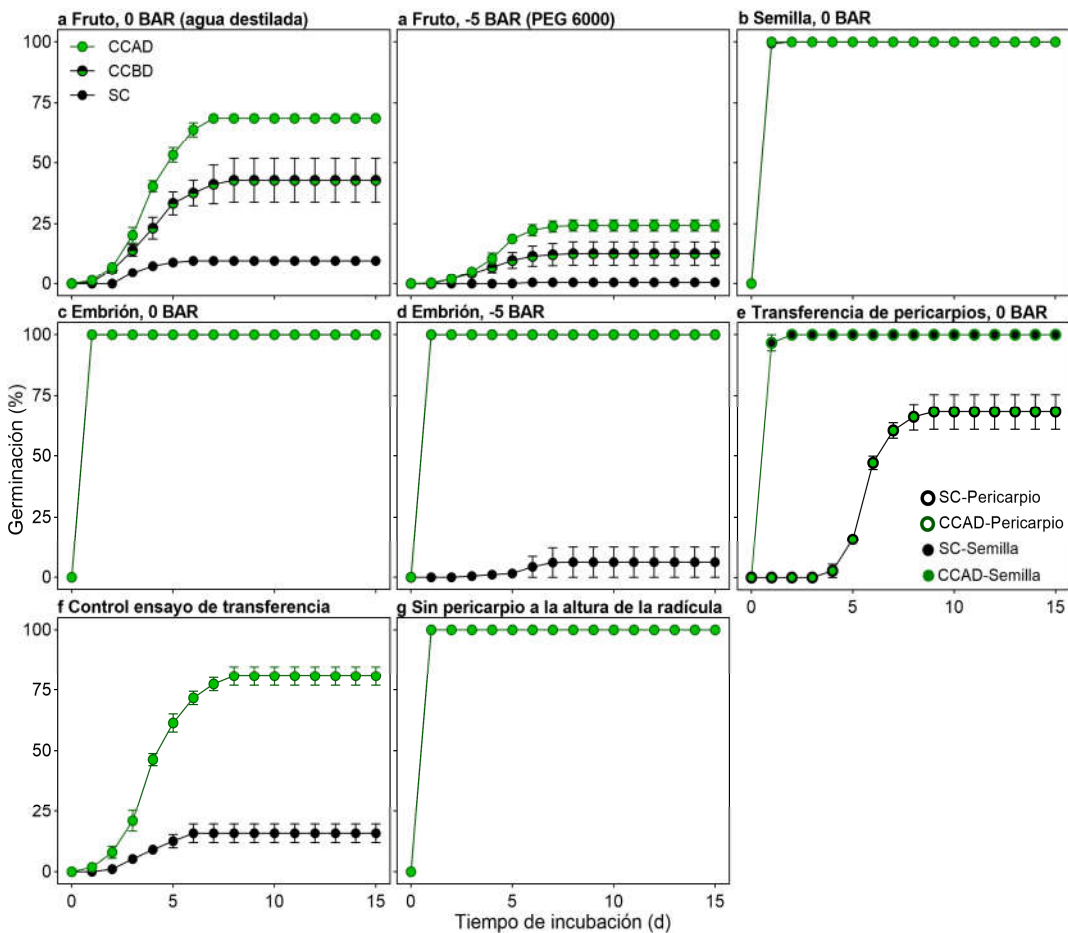


Figura 5. 13. Germinación acumulada (%) de (a) frutos, (b) semillas, y (c, d) embriones y (e) semillas con pericarpios intercambiados (transferencia CCAD↔SC) de *P. aviculare* incubados a 10/24 °C durante 15 d en agua destilada (0 BAR) o en solución con PEG 6000 (-5 BAR). En (f), las semillas de *P. aviculare* fueron envueltas con sus propios pericarpios luego de haber sido extraídos. En (g), la mitad basal del pericarpio respecto de la radícula de los frutos de *P. aviculare* fue eliminada. Las pruebas se realizaron a cosecha utilizando frutos de plantas aisladas (SC-Sin cultivo) o crecidas bajo un canopeo de un cultivo sembrado a alta (CCAD-Con cultivo a alta densidad) o baja (CCBD-Con cultivo a baja densidad) densidad. Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

En función del tratamiento materno, ciertas condiciones permitieron detectar variaciones en la capacidad de germinar de los embriones (Fig. 5.13). Por un lado, al transferir los pericarpios de frutos obtenidos de plantas aisladas a semillas de frutos de plantas expuestas a un canopeo (SC→CCAD), se observó una leve disminución de la germinación a 10/24 °C (Fig. 5.13e) en relación a semillas de CCAD intactas (Fig. 5.13a) y CCAD→CCAD sin transferencia (Fig. 5.13f). Si este tratamiento se compara con frutos SC→SC (Fig. 5.13f) es posible observar un incremento significativo de la germinación. A su vez, la transferencia de las cubiertas de SC a semillas de CCAD también determinó una disminución de la germinación, aunque en menor proporción, que frutos de tratamiento control (donde los pericarpios fueron extraídos y colocados nuevamente en semillas del mismo tratamiento) (Fig. 5.13f) y frutos completos sin intervención (Fig. 5.13a). La transferencia contraria (CCAD→SC) no pudo realizarse adecuadamente debido a que en muchos casos los pericarpios extraídos no envolvieron correctamente a las semillas (Fig. 5.13e). En este caso, las semillas del tratamiento CCAD→SC germinaron 100% cuando fueron envueltas por los pericarpios de frutos obtenidos de plantas aisladas.

Por otro lado, una disminución del potencial osmótico (de 0 a -5 BAR) redujo marcadamente la germinación de frutos intactos de SC (Sin cultivo), CCBD (Con cultivo a alta densidad) y CCAD (Con cultivo a baja densidad) a 10/24 °C (Fig. 5.13a). En cambio, al incubar embriones, el efecto del potencial osmótico sobre la capacidad germinativa de los embriones varió entre tratamientos de manera evidente (Fig. 5.13d). Mientras la reducción del potencial osmótico disminuyó la germinación del tratamiento SC prácticamente en su totalidad (de 100% en agua destilada a un ~12% en solución PEG), no se observó un efecto significativo sobre la germinación de los embriones del tratamiento CCAD.

5.3.4. Efectos sobre la emergencia a campo

A cosecha, frutos de CCAD y SC fueron enterrados en el suelo (30 de diciembre de 2018; ver temperatura del suelo en la figura S5.4). Periódicamente, se realizaron exhumaciones y los frutos se expusieron a: (1) luz solar directa (R:RL= $1,13 \pm 0,05$), (2) luz filtrada por un canopeo de cebada (R:RL= $0,32 \pm 0,19$) o (3) oscuridad (Fig. 5.14a). En términos generales, el patrón temporal de emergencia y la proporción de plántulas emergidas mostró variaciones entre tratamientos de ambiente materno.

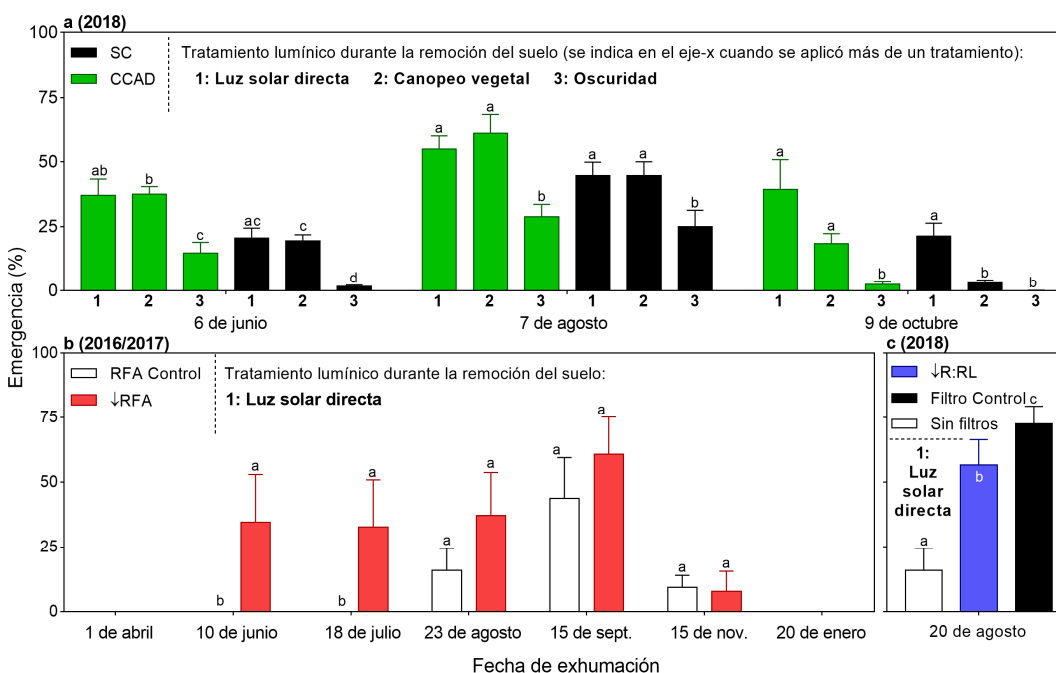


Figura 5. 14. Emergencia final (%) de plántulas de *P. aviculare* para distintas fechas de extracción (indicada en cada figura). Luego de la exhumación, los frutos se expusieron a (1) la luz solar, (2) un canopeo que redujo la R:RL de $1,13 \pm 0,05$ a $0,32 \pm 0,19$ o (3) oscuridad durante la remoción, y se volvieron a enterrar. En (a), los frutos se obtuvieron de plantas crecidas durante sus etapas reproductivas debajo del canopeo de un cultivo (CCAD-Con cultivo a alta densidad) o plantas aisladas (SC-Sin cultivo), 2017. En (b), los frutos provinieron de plantas crecidas durante sus etapas reproductivas bajo condiciones contrastantes de RFA (\downarrow RFA y RFA), 2016. En (c), de plantas crecidas durante sus etapas reproductivas bajo diferentes R:RL (\downarrow R:RL y R:RL) y sin filtros, 2017. (1), (2) y (3) fueron solo analizados en el panel (a), donde se indican en el eje-x; en el resto de los paneles (b-c), solo se expuso a los frutos a la luz solar directa durante la exhumación (tratamiento 1). Las columnas representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar. La viabilidad de los frutos durante el entierro se verificó mediante pruebas de germinación a $10/24$ °C (Fig. S5.5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$) según la prueba de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStatGroup, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

En la extracción de junio (Fig. 5.14a), el tratamiento SC mostró porcentajes similares de emergencia (~20%) luego de ser expuesto a luz solar directa o la luz filtrada por un canopeo, mientras que en oscuridad la germinación fue prácticamente nula (Fig. 5.14a). Para el tratamiento CCAD, los valores de emergencia también fueron similares tras la exposición a luz solar o a un canopeo (~38%) y menores en oscuridad (~16%); sin embargo, en los últimos dos tratamientos se observó una mayor emergencia que en SC. En la extracción de agosto, nuevamente la emergencia alcanzó niveles similares tras la exposición a luz solar o a la luz filtrada por un canopeo, la cual, aunque no difirió significativamente, tendió a ser mayor para el tratamiento CCAD que para SC. Estos niveles fueron mayores a los registrados tras la exhumación en oscuridad, condición que determinó aumentos en la emergencia respecto a la prueba de junio.

En la última extracción realizada en octubre (Fig. 5.14a), se observaron reducciones en la emergencia para ambos tratamientos de ambiente materno (CCAD y SC). La emergencia fue mayor para el tratamiento CCAD que para SC cuando los frutos fueron expuestos a un canopeo durante su exhumación. A diferencia de las remociones de junio-agosto, la exposición de los frutos a un canopeo de cebada no promovió la germinación del tratamiento SC y determinó una emergencia similar a la lograda en oscuridad (<2,5%). Para el tratamiento CCAD, la exposición a un canopeo de cebada también determinó el efecto observado luego de las remociones de junio-agosto, ya que promovió la germinación respecto a la condición de oscuridad, aunque esta promoción tendió a ser levemente menor a la generada por la luz solar directa.

Frutos de los tratamientos de ambiente materno CCAD y SC fueron sometidos a una cuarta condición de oscuridad sin remoción hasta octubre (i.e. frutos no exhumados). Dada la baja emergencia observada (<2%) durante el ensayo a campo, los cilindros asignados a este tratamiento fueron extraídos en oscuridad. En un cuarto oscuro, los

cilindros fueron dispuestos en bandejas que contenían agua sobre sus bases. La mitad de ellos permanecieron intactos y en la otra mitad se removió el suelo a la altura de la malla donde se ubicaban las semillas. Luego, los cilindros fueron envueltos con nylon negro e incubados a $10/24\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 60 d. La emergencia fue de $21,36\pm 3,92\%$ y $59,36\pm 5,73\%$ para los cilindros que se incubaron sin y con remoción, respectivamente.

Frutos madurados bajo diferentes niveles de RFA fueron enterrados el 2 de enero de 2017 (Fig. 5.14b). Mientras la emergencia para el control fue nula en junio/julio, el tratamiento \downarrow RFA emergió un 30-35% en estas exhumaciones. En agosto/septiembre, se observaron incrementos en la emergencia en ambos tratamientos; aunque no se detectaron diferencias significativas, esta tendió a ser mayor para el tratamiento \downarrow RFA. En los meses noviembre-enero, la emergencia disminuyó marcadamente y dejaron de observarse diferencias entre tratamientos. Por su parte, los frutos expuestos a variaciones en la R:RL durante su maduración en la planta madre fueron enterrados el 4 de enero (Fig. 5.14c) y extraídos el 20 de agosto de 2018. La proporción de plántulas emergidas fue mayor tanto para el control R:RL como para \downarrow R:RL respecto al control sin filtros, debido a que los tratamientos R:RL control y \downarrow R:RL determinaron reducciones significativas de la RFA (como se puede ver en el Cuadro 5.1). Sin embargo, la emergencia entre estos dos tratamientos difirió significativamente: esta fue menor para el tratamiento \downarrow R:RL que para el control R:RL.

5.4. Discusión

Bajo condiciones naturales y de cultivo, es común que las plantas silvestres y las malezas transiten sus etapas reproductivas bajo la presencia de canopeos de variada densidad, los cuales imponen complejas variaciones en el micro-ambiente circundante (Holmes y Smith 1977; Schmitt y Wulff 1993; Casal 2013). A pesar de la relevancia ecológica y agronómica que podría tener este tipo de interferencia, se desconoce cómo

el micro-ambiente impuesto por un canopeo puede afectar los patrones de emergencia de la generación siguiente. En el trabajo expuesto en este capítulo se logró establecer en qué sentido la presencia del canopeo de un cultivo de trigo durante la formación de los frutos de *P. aviculare* en la planta madre afecta el nivel de dormición y los requerimientos de luz para germinar de los frutos producidos (Fig. 5.4, 5.5 y 5.6). También se analizó cómo estos efectos se traducen en importantes cambios en la emergencia bajo condiciones de campo (Fig. 5.14a). Por otro lado, este trabajo muestra la importancia relativa de los factores del ambiente lumínico más alterados por la presencia de un canopeo, la RFA y la R:RL (Fig. 5.7, 5.8 y 5.14b,c) y avanza sobre la participación de las cubiertas y de los cambios en el potencial de crecimiento del embrión en las respuestas observadas.

La presencia de un canopeo genera reducciones marcadas en la RFA, la R:RL, disminuciones de la temperatura media y la alteración de otras variables, como la humedad relativa del aire o las condiciones de humedad y de disponibilidad de nutrientes en el suelo. A pesar de modificar múltiples factores, el efecto de la presencia de un canopeo durante las etapas reproductivas de las plantas sobre el comportamiento germinativo de la siguiente generación ha sido generalmente asociado a los cambios que determina en la R:RL del ambiente lumínico. La idea principal ha consistido en plantear que la presencia de un canopeo, al reducir la R:RL, induce aumentos de los requerimientos de luz de las semillas para germinar (i.e. aumentos en el nivel de dormición). En contraposición a esto, en el presente trabajo, el ambiente impuesto por el canopeo de un cultivo de trigo (Cuadro 5.1) determinó una disminución marcada del nivel de dormición de los frutos de *P. aviculare* (Fig. 5.4, 5.5 y S5.1) y de sus requerimientos de luz para germinar (Fig. 5.6). Por ejemplo, frutos provenientes de plantas aisladas sólo germinaron luego de un pulso de R en evidente sinergia con la

alternancia térmica (i.e. a 10/24 °C). En cambio, la germinación de frutos formados bajo un canopeo alcanzó valores cercanos al 50-75% en oscuridad y luego de un pulso de RL, tanto a 10/24 °C como a 15 °C (Fig. 5.6). Más aun, la capacidad de los frutos que se formaron bajo un canopeo para germinar en oscuridad determinó que una elevada proporción germinara *in situ* durante el proceso de estratificación, es decir enterrados en oscuridad y a baja temperatura (ver columnas en la figura 5.6). Más allá de que hay trabajos que muestran respuestas variables a la presencia de un canopeo durante la formación de las semillas (e.g.: Marin et al. 2019), en su conjunto, los resultados presentados en este capítulo contrastan con lo comúnmente señalado en la bibliografía.

En el presente trabajo se logró discriminar el efecto individual que la R:RL y la RFA, los dos componentes del ambiente lumínico que resultan más alterados por la presencia de un canopeo, sobre el nivel de dormición de los frutos de *P. aviculare* (Fig. 5.1). Los resultados mostraron una influencia antagónica de estos factores (Fig. 5.7 y 5.8). Una menor R:RL aumentó la dormición y los requerimientos de luz para germinar de los frutos de *P. aviculare* (Fig. 5.7b y 5.8b), tal como ha sido reportado para muchas especies (Hayes y Klein 1974; Cresswell y Grime 1981; Orozco-Segovia et al. 1993; Benvenuti y Macchia 1997; Hinsberg 1998; Contreras et al. 2009); mientras que una menor RFA generó efectos opuestos (Fig. 5.7a y 5.8a), como también se ha verificado en numerosas especies silvestres y cultivadas (Kigel et al. 1977; Sánchez et al. 1981; Jha et al. 2010). A su vez, una reducción en la R:RL determinó una menor proporción de plántulas emergidas en el campo (Fig. 5.14c), mientras que una menor RFA generó aumentos en dicha proporción en las cohortes más tempranas (Fig. 5.14b). Este trabajo no evaluó el efecto de otras variables ambientales fuertemente alteradas por la presencia de un canopeo, como la temperatura. Sin embargo, el efecto de la temperatura materna sobre la dormición en semillas de *P. aviculare* fue estudiado y cuantificado en el

Capítulo 4 de la presente tesis. Dicho efecto se caracterizó por una relación negativa entre la temperatura, el nivel de dormición y los requerimientos de luz de las semillas para germinar (como ha sido reportado para muchas otras especies). Dado que la presencia del canopeo redujo la temperatura a la cual maduraron las semillas (Cuadro 5.1), pero determinó aumentos en la germinación, la temperatura parecería no estar involucrada en esta regulación, aunque sus posibles interacciones con otros factores deberían ser analizadas en futuras investigaciones. Es posible afirmar, por lo tanto, que la variable alterada por la presencia de un canopeo que mayor impacto relativo determina sobre el comportamiento germinativo de los frutos de *P. aviculare* es la RFA y no la R:RL (Fig. 5.7 y 5.8) - ni la temperatura-. Estos resultados coinciden en líneas generales con aquellos recientemente obtenidos por Leverett et al. (2016) y Vayda et al. (2018), quienes encontraron que la simulación de canopeos mediante el uso de filtros determina aumentos de la germinación en semillas de *A. thaliana*, lo cual sugiere que el rol del canopeo detectado en el presente trabajo podría ser común a otras especies.

El efecto del canopeo sobre el nivel de dormición de los frutos determinó importantes aumentos de la emergencia a campo (Fig. 5.14a). Esto se observó principalmente en las extracciones más tempranas. En contextos donde la competencia por radiación y otros recursos es elevada, una emergencia más temprana podría determinar ventajas en relación al balance competitivo con otros componentes del sistema (Schmitt 1997; Verdú y Traveset 2005; Vayda et al. 2018). Las respuestas observadas podrían representar para cierta fracción de la descendencia la posibilidad de desarticular su emergencia respecto al establecimiento de sus vecinos, lo que podría mejorar sus posibilidades de establecimiento, crecimiento y producción de semillas (como se evidencia en la figura 5.2). Efectos similares han sido previamente sugeridos para *A. thaliana* en función de observaciones realizadas bajo condiciones controladas

(Leverett et al. 2016; Vayda et al. 2018). Sin embargo pocos trabajos han podido demostrar que la presencia de un canopeo durante la formación de semillas y frutos en la planta madre determina cambios en la dinámica de emergencia de la descendencia.

La maduración de los frutos de *P. aviculare* bajo el ambiente impuesto por un canopeo generó cambios en el potencial de crecimiento del embrión y determinó variaciones a nivel de las cubiertas (específicamente, el pericarpio). Por un lado, las condiciones impuestas por la presencia de un canopeo durante la maduración de los frutos determinaron aumentos en el potencial de crecimiento de los embriones extraídos de frutos recién cosechados (Fig. 5.13). Esto se evidenció particularmente cuando la incubación en PEG determinó la inhibición de la germinación de aquellos embriones obtenidos de plantas aisladas, pero no afectó la germinación de aquellos embriones obtenidos de plantas expuestas a un canopeo (Fig. 5.13). Por otro lado, se observaron diferencias en el grado de restricción mecánica ofrecida por los pericarpios al crecimiento del embrión (Fig. 5.13, S5.2 y S5.3): la eliminación del pericarpio permitió que la germinación de semillas y embriones ascendiera al 100% bajo una variedad de temperaturas y condiciones de incubación.

Además de los efectos descriptos en el párrafo anterior, la presencia de un canopeo determinó reducciones significativas del espesor (Fig. 5.10) y la dureza de los pericarpios (como sugiere la figura 5.13). Efectos similares han sido documentado en distintas especies (revisado en: Penfield 2017) y coincide, en líneas generales, con lo observado en el Capítulo 3 en semillas de *Amaranthus hybridus*. A su vez, frutos madurados bajo un canopeo mostraron una mayor imbibición que aquellos frutos obtenidos de plantas aisladas (Fig. 5.11). El grado de permeabilidad al agua y de resistencia mecánica a la expansión de la radícula son propiedades que se correlacionan positivamente con el contenido de fenoles en diversas especies (Debeaujon et al. 2000).

En este sentido, los frutos de *P. aviculare* de plantas expuestas a un canopeo tuvieron un menor contenido de fenoles (Cuadro 5.2), algo frecuentemente detectado en órganos vegetales expuestos a reducciones de la RFA y de los rayos UV -como ocurre debajo de un canopeo- (Feng et al. 2013; Song et al. 2015; Vidovic et al. 2015). En relación al ambiente materno, distintos factores (usualmente asociados a bajas tasas de crecimiento y llenado de las semillas en las plantas) han mostrado afectar el contenido de fenoles de las cubiertas de las semillas. Por ejemplo, una menor temperatura materna en *A. thaliana* (Macgregor et al. 2015) y el déficit hídrico en *Glycine max* (Caldwell et al. 2005) y *G. soja* (Zhou et al. 2010) determinan la producción de semillas con un mayor contenido de fenoles. El contenido de fenoles y la dureza de las cubiertas cumplen una función de defensa contra adversidades, retrasa el deterioro y la descomposición de las semillas. Estos resultados sugieren que el microambiente impuesto por la presencia de un canopeo durante la maduración de las semillas podría no sólo afectar la dinámica de la dormición de la descendencia, sino también influenciar la tasa de mortalidad de las semillas en el suelo, y la longevidad de los bancos de semillas.

Los cambios estructurales y de composición de los pericarpios de los frutos de *P. aviculare* madurados bajo un canopeo modificaron la transmitancia de los mismos (Fig. 5.12). Las variaciones en la transmitancia de las cubiertas pudieron determinar los frutos madurados bajo un canopeo presentaran una mayor relación P_{fr}/P_{total} que aquellos que se obtuvieron de plantas que se mantuvieron aisladas (Fig. 5.12; ver cambios en la pigmentación de cubiertas y embriones en las fotografías de la figura 5.9), aun cuando experimentaron un ambiente lumínico con una menor R:RL (Cuadro 5.1). Esto último permitiría explicar en gran medida las diferencias observadas en la germinación de frutos recién cosechados incubados en oscuridad (Fig. 5.6) y las variaciones en el potencial de crecimiento de los embriones (Fig. 5.13) (Carpita et al. 1979; Arana et al.

2006). Bajo una misma condición lumínica (luz solar directa), los fotoequilibrios resultantes fueron mayores para los frutos madurados bajo un canopeo denso que para aquellos obtenidos de plantas aisladas o expuestas al canopeo de un cultivo sembrado a una baja densidad (Cuadro 5.3), lo cual explica en gran medida las diferencias observadas en la respuesta LFR durante la estratificación (Fig. 5.6).

Aunque en futuros análisis deberían incorporarse posibles interacciones entre la RFA y la R:RL (y otros factores del ambiente modificados por la presencia de canopeos), la información provista por el presente trabajo permite identificar, no sólo hasta qué punto las plantas de *P. aviculare* son capaces de modificar el comportamiento de su descendencia, sino también cuál es el factor del ambiente lumínico responsable de estos efectos. Si bien se corroboraron los efectos previamente señalados de las variaciones en la R:RL sobre los requerimientos de luz de las semillas y frutos para germinar, la reducción que determinan los canopeos en la cantidad de RFA explicaría los principales resultados observados. En este sentido, si bien los resultados obtenidos en este trabajo circunscriben al comportamiento de *P. aviculare* (no sólo en el biotipo principalmente utilizado, sino en distintos biotipos; Fig. S5.1), resulta insoslayable que una simplificación excesiva del contexto impuesto por la presencia de canopeos puede conducir a la obtención de resultados erróneos e interpretación equívocas. El hecho de que el efecto de la temperatura materna sobre la dormición haya sido establecido en el Capítulo 4 de la presente tesis, y que presente un efecto sobre la dormición en sentido contrario al observado en los ensayos de presencia de canopeo, contribuye a fortalecer el rol relativo de la RFA sugerido en el presente trabajo. Por otro lado, este trabajo muestra en gran medida cómo la presencia de un canopeo determina una serie de variaciones en los componentes de cubiertas y embrionario que imponen dormición en frutos de *P. aviculare*, lo cual incide sobre el nivel de dormición de los frutos y su

subsecuente emergencia (Fig. 5.14). Existen claras evidencias de que el nivel de dormición reside en el equilibrio entre la restricción ofrecida por las cubiertas de las semillas y la fuerza expansiva del eje embrionario. Sin embargo, el conocimiento existente acerca de cómo la presencia de un canopeo puede modificar este balance es escaso. En función de los resultados obtenidos resulta evidente la relevancia de analizar cómo la presencia de un canopeo podría afectar los componentes de cubierta y embrionarios que imponen dormición.

Es evidente que la capacidad de las plantas de responder a las interferencias impuestas por la presencia de canopeos determina, en gran medida, su grado de éxito -o fracaso- en un contexto ecológico dado. En este trabajo, plantas de *P. aviculare* expuestas a canopeos de trigo a partir de floración experimentaron fuertes reducciones en su producción de semillas (Fig. 5.2), lo cual indica la importancia que representa para esta especie la posibilidad de desacoplar su emergencia respecto a la de sus competidores. Por otro lado, cabe señalar que esta especie es capaz de extender sus entrenudos (en este trabajo, los entrenudos de plantas aisladas midieron $1,09 \pm 1,36$ cm, mientras que los de aquellas expuestas al cultivo midieron $2,86 \pm 1,58$ cm) y posicionar parte de sus hojas y tallos por encima del canopeo, evadiendo parcialmente el sombreado que este genera. Esto probablemente determine una variabilidad en el ambiente explorado -según el grado de exposición- mayor a la abarcada en este trabajo por razones metodológicas (ya que no se permitió este escape parcial; Fig. 5.1). Por lo tanto, bajo condiciones naturales una misma planta produciría semillas con diferentes grados de dormición en función de su posición dentro del canopeo, lo cual supone una gran variabilidad fenotípica de la descendencia. Cabe preguntarse si esta variabilidad contribuye a la capacidad de adaptación y persistencia de las plantas de esta especie, así como a ampliar el rango de ambientes que pueden potencialmente habitar. Así,

considerando los distintos estudios realizados en esta tesis, se podría aseverar que la regulación que ejerce el ambiente materno, no sólo contribuiría a sincronizar la emergencia de los principales flujos o cohortes con aquella ventana temporal que permite a las plantas maximizar su éxito reproductivo (Ver Capítulos 2, 3 y 4), sino también a intentar posicionar la emergencia de cierta fracción de la población de semillas en una ventana temporal que le permita a las plantas de *P. aviculare* disminuir su competencia con vecinos (lo cual, en definitiva, también permitiría a las plantas potenciar su capacidad reproductiva). Indudablemente, profundizar el conocimiento sobre este fenómeno permitiría aumentar nuestra capacidad de predecir el comportamiento de las comunidades vegetales en contextos ecológicos variables.

CAPÍTULO 6

Discusión general

Resumen

En este capítulo: (i) se retoma el marco conceptual de la problemática abordada con el fin de ampliarlo en función de los resultados obtenidos en esta tesis y se contrastan las hipótesis y predicciones planteadas en el capítulo 1, (ii) se realiza un análisis acerca del rol ecológico del ambiente materno en relación a sus efectos sobre la emergencia y la capacidad reproductiva de las plantas, (iii) se interpretan los resultados obtenidos en relación al comportamiento de las malezas en el contexto de los sistemas productivos, (iv) se plantean consideraciones generales acerca del posible efecto del ambiente materno en un contexto de cambio climático y, por último, (v) se detallan las implicancias para investigaciones futuras.

6.1. Marco conceptual de la problemática abordada

En el campo, la emergencia de las especies anuales presenta una dinámica estacional relativamente definida. Así, es posible distinguir aquellas especies que se caracterizan por emerger durante la primavera y el verano, denominadas primavera-estivales, de aquellas que lo hacen durante el otoño y el invierno, denominadas otoño-invernales (Baskin y Baskin 1988). A su vez, dentro de las primavera-estivales, hay ciertas especies que emergen más temprano en la primavera (como *Polygonum aviculare*), o más tarde, incluso entrado el verano (como *Amaranthus hybridus*). Dentro de la estación correspondiente, el momento y la proporción de la emergencia (i.e. los patrones temporales) varían cada año, pudiendo incluso ocurrir que cierta especie no emerja en un año específico o lo haga en una proporción muy pequeña. Estas variaciones están determinadas, en gran medida, por el nivel de dormición que presentan los bancos de semillas del suelo, un carácter complejo cuya expresión es gobernada por numerosos

genes y modulada por distintos factores ambientales (Koornneef et al. 2002; Finch-Savage y Footitt 2012). A pesar de que su abordaje no resulta una tarea sencilla, se han logrado avances acerca de cómo analizar y modelar los cambios en el nivel de dormición de las semillas en función de los factores ambientales que los regulan. En este sentido, Benech-Arnold et al. (2000) y Batlla y Benech-Arnold (2010) proponen distinguir a los factores ambientales en función de su efecto entre aquellos que modulan los cambios estacionales en el nivel de dormición (e.g. la temperatura del suelo), y aquellos que terminan la dormición e inician la germinación (e.g. la luz y la alternancia térmica). A su vez, Batlla y Benech-Arnold (2010) y Batlla y Benech-Arnold (2015) plantean un marco conceptual que permite interpretar el efecto de la temperatura del suelo sobre el nivel de dormición de las semillas. Estos autores proponen caracterizar este efecto a través de la cuantificación de la evolución de los límites del rango térmico permisivo para la germinación y los cambios en la sensibilidad a otros factores (como la luz y la alternancia térmica) considerando la variabilidad poblacional existente para estas respuestas. La presente tesis ha basado su enfoque metodológico en estos trabajos, cuyos aportes fueron sintetizados y esquematizados en las figuras 1.1 y 1.2 presentadas en el Capítulo 1.

Se ha propuesto extensamente que la dinámica estacional y los patrones temporales de emergencia podrían ser afectados, a su vez, por las condiciones ambientales que experimentan las semillas pre-dispersión. Esto radica en que numerosos trabajos muestran que el nivel de dormición de las semillas es fuertemente afectado por el ambiente que estas experimentaron durante su desarrollo y maduración en la planta madre, fenómeno que esta tesis definió en sentido amplio como efecto del ambiente materno (Roach y Wulff 1987; Fenner 1991). El efecto del ambiente materno se ha detectado principalmente bajo condiciones controladas; aun así, se ha sugerido

extensamente que el efecto del ambiente materno tendría el potencial de impactar sobre la estacionalidad y los patrones temporales de emergencia de las plantas en el campo. A pesar de la importancia ecológica de estas aseveraciones, y aunque diversos factores han mostrado modificar fuertemente el nivel de dormición de las semillas durante su desarrollo y maduración (e.g. -la fecha de siembra- Ceccato et al. 2015; -el fotoperíodo- Pourrat y Jacques 1975; Kigel et al. 1977; Munir et al. 2001; Imaizumi et al. 2017; -la temperatura- Steadman et al. 2004; Kendall et al. 2011; Kendall y Penfield 2012; Penfield y Springthorpe 2012; Chen et al. 2014; Macgregor et al. 2015; -la RFA- Kigel et al. 1977; Sánchez et al. 1981; Jha et al. 2010; -la R:RL- Hayes y Klein 1974; Cresswell y Grime 1981; Orozco-Segovia et al. 1993; Benvenuti y Macchia 1997; Hinsberg 1998; Contreras et al. 2009), al inicio de este proyecto de tesis se desconocía cómo este efecto podría alterar la evolución del rango térmico permisivo para la germinación durante la salida de la dormición primaria y la inducción en dormición secundaria; las respuestas de las semillas a la luz y la alternancia térmica; y la dinámica de emergencia bajo condiciones de campo. La ausencia de evidencias concretas en relación a estos efectos dio origen a este trabajo, cuyos principales aportes han generado las bases para ampliar el marco conceptual descripto en el párrafo anterior. Más aun, la combinación de experimentos de laboratorio y de campo, y el análisis de los datos obtenidos con modelos poblacionales de umbral, permitió utilizar la información generada para develar el significado ecológico de esta regulación y predecir el comportamiento de las poblaciones de semillas ante cambios en el ambiente materno.

6.2. Revisión de las hipótesis y planteo de un modelo conceptual que contempla el efecto del ambiente materno sobre la dormición

La figura 6.1 muestra la ampliación del marco conceptual resumido en la figura 1.1 del Capítulo 1, lograda a partir de los resultados obtenidos en relación al efecto del

ambiente materno sobre el rango térmico permisivo para la germinación, las respuestas a la luz y la alternancia térmica en semillas de *P. aviculare* obtenidas de plantas sembradas en distintas fechas (Capítulo 2). En concordancia con las Hipótesis 1 y 2, cambios en la fecha de siembra determinaron variaciones en las tasas de salida (Fig. 2.3 y 2.4) e inducción en dormición (Fig. 2.7 y 2.9): semillas maduras y dispersadas más tarde -debido a una siembra de la planta madre más tardía- salieron más rápido de la dormición primaria y tuvieron una mayor tasa de inducción en dormición secundaria que aquellas maduras y dispersadas antes. Esto no sólo se observó en el principal biotipo utilizado, sino que se verificó en semillas de distintos biotipos (Fig. S2.3). A diferencia de lo planteado en la Hipótesis 4, estas variaciones determinaron cambios en ambos límites del rango térmico permisivo para la germinación ($T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$). Esto se relacionó con el hecho de que semillas de un ambiente de maduración más tardío mostraron aumentos significativos de su germinación, a bajas y altas temperaturas de incubación (i.e. 20-25 °C) en relación a la alcanzada por semillas de una siembra más temprana (Fig. 2.8 y 2.9). Estos modelos permitieron evidenciar que los cambios en los límites térmicos (i.e. el rango térmico permisivo para la germinación) fueron mayores cuando las semillas provinieron de siembras más tardías. El resultado de estas variaciones en la tasa de salida de la dormición primaria de las semillas, al contrario de lo propuesto en la Hipótesis 5, fue una clara sincronización de los patrones temporales de emergencia a campo (Fig. 2.10 y 2.11). A la vez, las diferencias en las tasas de inducción en dormición secundaria en semillas provenientes de distintas fechas de siembra determinaron que el final de la ventana de emergencia también convergiera independientemente del momento de dispersión de las semillas y del nivel de dormición primaria que estas presentaran (Fig. 2.10 y 2.11).

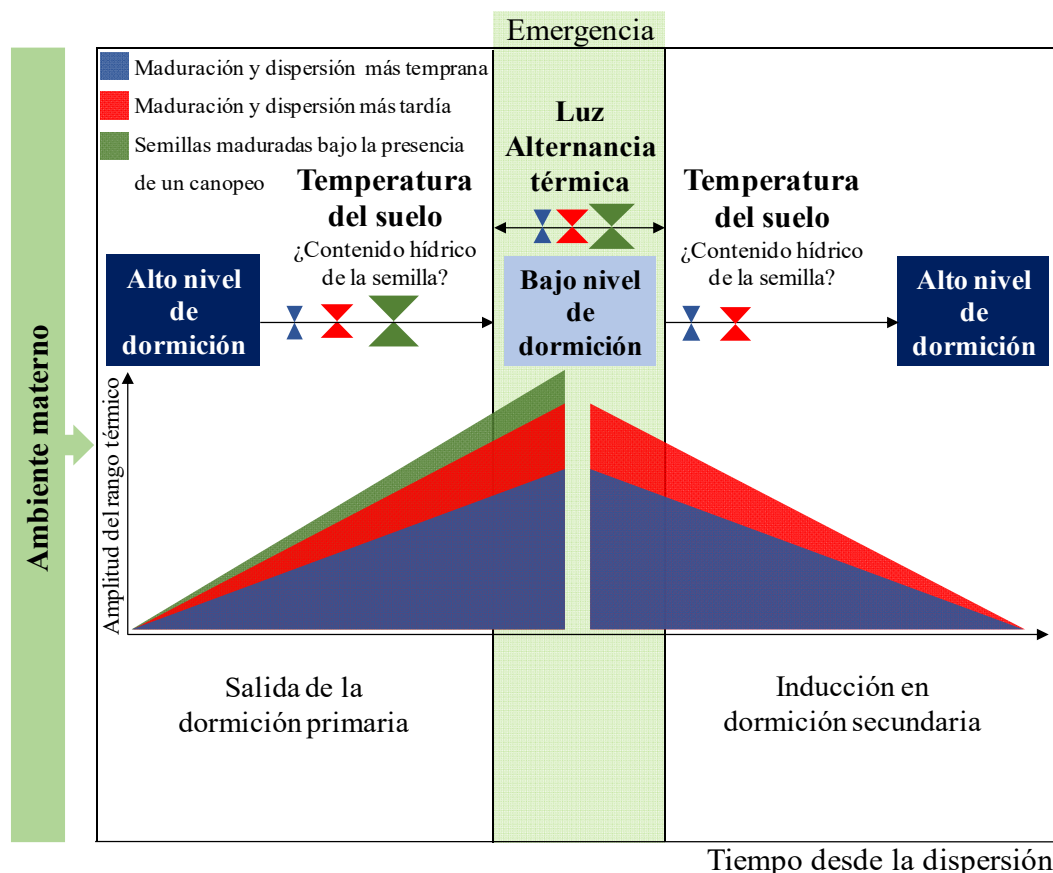


Figura 6. 1. Diagrama de los cambios en el nivel de dormición de semillas de *P. aviculare* a lo largo del tiempo considerando el efecto de la fecha de siembra de la planta madre sobre las tasas de salida e inducción en dormición y las respuestas a la luz y a la alternancia térmica. Variaciones en la fecha de siembra determinaron cambios en el ambiente de maduración y el momento de dispersión de las semillas: en azul (semillas maduras y dispersadas más tempranamente) y rojo (semillas maduras y dispersadas más tardíamente). Semillas maduras y dispersadas más temprano presentaron una menor tasa de salida e inducción en dormición que las dispersadas más tarde. A su vez, semillas dispersadas antes presentaron mayores requerimientos de luz y alternancia térmica que aquellas dispersadas más tarde. Se desconoce si las condiciones experimentadas por las semillas determinan cambios en la respuesta de estas al contenido de agua del suelo. En verde: cambios en el nivel de dormición de semillas maduras y dispersadas en un mismo momento, pero que fueron expuestas a variaciones en el ambiente debido a la presencia de un canopeo durante su desarrollo y maduración en la planta madre. Estas semillas mostraron una mayor tasa de ampliación del rango térmico permisivo para la germinación durante la salida de la dormición, así como menores requerimientos de alternancia térmica y luz para germinar. Las llaves representan las tasas afectadas por el efecto materno; a mayor tamaño, mayor tasa. Adaptado de Benech-Arnold et al. (2000) y del marco conceptual propuesto por Batlla y Benech-Arnold (2010; 2015).

Además de los cambios en las tasas de salida e inducción en dormición, las semillas de *P. aviculare* mostraron una disminución de los requerimientos de luz (Fig. 2.6 y S2.4) y temperaturas alternadas (Fig. 2.3, 2.4 y S2.7) para germinar cuando provinieron de un ambiente de maduración más tardío (Fig. 6.1). Esto se evidenció

cuantitativamente cuando al incorporar las respuestas a la alternancia térmica a los modelos de predicción desarrollados (Fig. S2.7), las simulaciones obtenidas mejoraron marcadamente su ajuste en relación a la emergencia observada (Fig. 2.11). Las respuestas a la luz y a la alternancia térmica son frecuentes en la naturaleza y han sido extensamente asociadas con la posibilidad de las semillas de detectar, por ejemplo, claros en la vegetación o la profundidad de entierro (Vincent y Roberts 1977; Benech-Arnold et al. 2000; Finch-savage y Footitt 2017). Sin embargo, el efecto del ambiente materno sobre estas respuestas y sus implicancias ecológicas es desconocido.

A modo de validación, el esquema resumido en la figura 6.1 es aplicable, en gran medida, a *A. hybridus* ya que, nuevamente, semillas de un ambiente de maduración más tardío presentaron un menor nivel de dormición (Fig. 3.3, 3.4 y S3.3) -cuantificado también a través la variación de ambos límites térmicos y sus desvíos (Fig. 3.10 y S3.12)-, y menores requerimientos de luz para germinar (Fig. 3.5). El efecto de la fecha de siembra sobre las respuestas de las semillas de *A. hybridus* a la alternancia térmica resultó, en cambio, menos evidente (Fig. S3.4). En relación a la Hipótesis 5, al igual que en *P. aviculare* (Fig. 2.10), las variaciones en el nivel de dormición detectadas bajo condiciones controladas, lejos de causar cambios en la emergencia, determinaron que semillas maduras y dispersadas en diferentes momentos mostraran una sincronización en sus patrones temporales de emergencia (Fig. 3.8 y S3.12). Además, al analizar el efecto de los factores que más varían ante cambios en la fecha de siembra (i.e. el fotoperíodo y la temperatura), también se detectaron ciertas similitudes entre especies. Como plantea la Hipótesis 1, un mayor fotoperíodo (*P. aviculare* y *A. hybridus*) y una menor temperatura (*P. aviculare*) determinaron un menor nivel de dormición (Fig. 2.4, 2.5, 4.3, 4.4, 4.5 y 4.6). Dado que estos resultados van en la misma dirección que los efectos señalados ante cambios en la fecha de siembra, es posible sugerir que las

diferencias representadas en la figura 6.1 entre semillas dispersadas en diferentes momentos se expliquen en gran medida por las condiciones fotoperiódicas y térmicas que estas exploraron durante su desarrollo y maduración en la planta madre.

Por otro lado, en el esquema de la figura 6.1 se incluyen, a su vez, los principales efectos que la presencia del canopeo de un cultivo de trigo determina sobre el nivel de dormición primaria de las semillas de *P. aviculare* (descritos en el Capítulo 5). A diferencia de lo planteado en la Hipótesis 1, la presencia de un canopeo causó fuertes disminuciones del nivel de dormición primaria de las semillas cosechadas (Fig. 5.4 y 5.5; esquematizado en la figura 6.1). Entre los efectos detectados por la presencia de un canopeo durante el desarrollo y la maduración de las semillas en la planta madre, se observaron disminuciones en los requerimientos de luz de las semillas para germinar (Fig. 5.6 y 5.14) y una mayor tasa de ampliación del rango térmico permisivo para la germinación durante la salida de la dormición (Fig. 5.5). Estos efectos, en coincidencia con lo planteado en la Hipótesis 5, determinaron importantes variaciones en la dinámica de emergencia a campo, ya que la proporción de plántulas de *P. aviculare* emergidas fue mayor cuando las semillas provinieron de plantas expuestas a un canopeo durante la etapa de formación de las semillas (Fig. 5.12a). Por su parte, al analizar los efectos de la RFA, la R:RL (Capítulo 5) y la temperatura (Capítulo 4), factores que varían marcadamente debido a la presencia de un canopeo, se obtuvieron resultados esperables según las predicciones correspondientes (Hipótesis 1 y 5), tanto en el laboratorio (Fig. 4.3, 4.8, 4.7 y 5.6) como a campo (Fig. 4.9 y 5.12): una mayor RFA determinó la obtención de semillas que presentaron un menor nivel de dormición primaria, y lo contrario ocurrió ante disminuciones de la R:RL y de la temperatura (esto último según los resultados del Capítulo 4).

En función de lo descripto, es posible analizar el alcance de los efectos detectados considerando aquellos factores que determinan una sincronización de la emergencia (Capítulos 2, 3 y 4) y de aquellos que parecerían otorgar variabilidad a dicho proceso (Capítulo 5). Dada la existencia de ciertas similitudes, la influencia del ambiente materno sobre los componentes de las semillas (*A. hybridus*) y los frutos (*P. aviculare*) que imponen la dormición se discutirán conjuntamente en un tercer apartado.

6.2.1. El efecto de la fecha de siembra sobre la dormición y sus consecuencias sobre la emergencia a campo

En *P. aviculare* y *A. hybridus*, los patrones temporales de emergencia a campo mostraron una clara sincronización a pesar de que las semillas maduraron y se dispersaron en diferentes momentos debido a variaciones en la fecha de siembra de la planta madre (Fig. 2.10 y 3.8). Como se esquematiza en la figura 6.2, fue posible esclarecer cuantitativamente que esa sincronización fue el resultado directo del efecto del ambiente materno sobre la dinámica de la dormición de las semillas (Capítulos 2 y 3). En este sentido, los resultados obtenidos para ambas especies mostraron que el control materno es capaz de generar una gran plasticidad en el comportamiento germinativo de la descendencia, medida como cambios en las tasas de salida e inducción en dormición en respuesta a la temperatura del suelo post-dispersión y en las respuestas a la luz y la alternancia térmica (Fig. 6.1). Esta plasticidad puede ser considerada como un mecanismo que permite a las plantas ajustar su fenología a la ventana estacional correspondiente más allá de la heterogeneidad ambiental que experimenten las semillas durante su desarrollo y maduración en la planta madre.

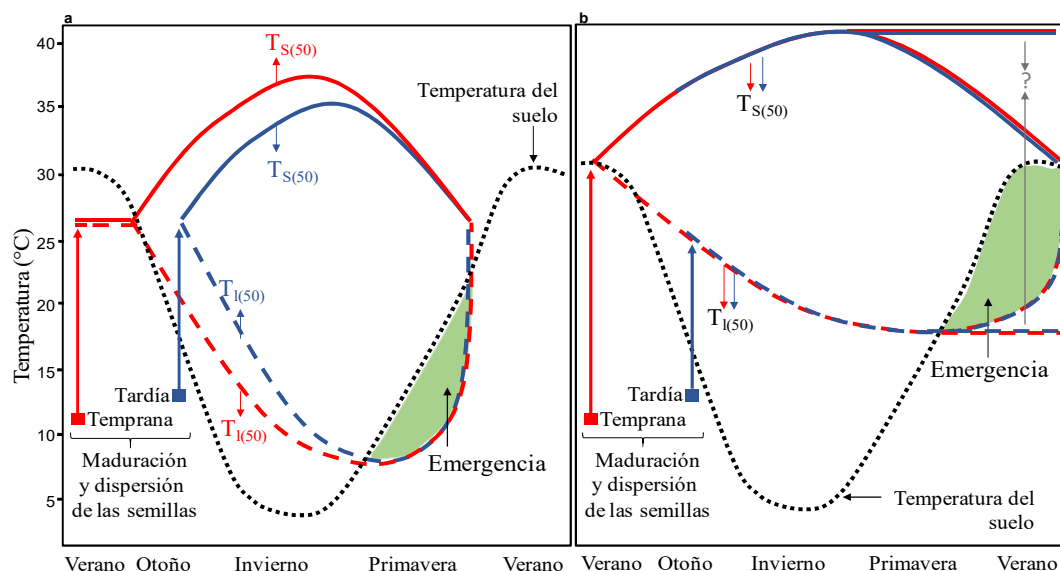


Figura 6. 2. Cambios estacionales en el rango térmico permisivo para la germinación y su relación con la temperatura del suelo, considerando el efecto del ambiente materno en semillas de (a) *P. aviculare* y (b) *A. hybridus*. El momento de maduración y dispersión de las semillas se especifica en cada figura. La $T_{S(50)}$ se representa con líneas continuas y la $T_{I(50)}$, a rayas. La evolución de los límites muestra algunas diferencias relacionadas con características propias de cada especie y con la metodología empleada para su determinación. En *P. aviculare*, las variaciones en el nivel de dormición se cuantificaron como cambios en la tasa a la cual se amplió (Fig. 2.8) y estrechó (Fig. 2.9) el rango térmico, mientras que no se detectaron diferencias en el nivel de dormición a la dispersión. En *A. hybridus* (b), estas variaciones fueron principalmente explicadas por los distintos niveles de dormición cuantificados a la dispersión (Fig. 3.9). Las flechas grises señalan el hecho de que se desconoce si estas semillas presentan dormición secundaria, pero en función de la dinámica de emergencia observada en este y otros trabajos (Kruk 1992; Faccini y Vitta 2005), el esquema lo sugiere como una posibilidad. La línea punteada negra representa la temperatura del suelo. El área sombreada en verde en (a) y (b) muestra el período en el que se produce la emergencia para el 50% de la población debido al ingreso de la temperatura del suelo al rango térmico permisivo para la germinación de dicha fracción de la población (ingreso que ocurre más temprano en *P. aviculare* que en *A. hybridus*). Modificado de Probert (1992), adaptado de Benech-Arnold et al. (2000).

El efecto del ambiente materno sobre la emergencia a campo (i.e. su sincronización) se relacionó con la posibilidad de las plantas de ubicar sus etapas reproductivas en aquel período que les permite maximizar su producción de semillas (Ver cuadro de la figura 2.10), como sugirieron anteriormente a Burghardt et al. (2016) y Edwards et al. (2016). Al realizar simulaciones considerando la ausencia de variaciones en el nivel de dormición de las semillas resultó evidente cómo el efecto materno redujo la ocurrencia de flujos o cohortes tempranos para los cuales resultaría elevado el riesgo de daños por heladas durante las etapas reproductivas de las plantas; y minimizó la ocurrencia de

cohortes tardías que coincidirían con aquellos períodos en que las condiciones ambientales disminuyen marcadamente la producción de semillas por planta (Fig. 2.12 y 3.10). Esto tiene un evidente significado ecológico dado que, en climas con estaciones marcadas, las condiciones adecuadas para la reproducción de las plantas suelen tener lugar en una estación determinada y acotada. Esto implica que el efecto del ambiente materno cumple un rol fundamental en relación al éxito reproductivo de las plantas, algo ampliamente sostenido por diversos autores pero que contaba con escasas evidencias científicas que lo respaldara (Donohue 2009).

El esquema de la figura 6.2 muestra ciertas diferencias observadas en el comportamiento germinativo de las especies estudiadas. Por ejemplo, en semillas de *P. aviculare* (Fig. 6.2a), las variaciones en el rango térmico permisivo para la germinación se cuantificaron como variaciones en la tasa a la cual este se amplió (Fig. 2.8) y estrechó (Fig. 2.9), mientras que no se detectaron diferencias en el nivel de dormición a la dispersión (cuando la germinación de semillas intactas fue muy reducida). En cambio, en *A. hybridus* (Fig. 6.2b), las variaciones en la amplitud del rango térmico permisivo para la germinación fueron principalmente explicadas por los distintos niveles de dormición al momento de la dispersión (Fig. 3.9). Más allá de estas diferencias, los esquemas buscan mostrar efecto común del ambiente materno en relación a la ubicación de la ventana de emergencia en semillas de distintas especies primavera-estivales. Esto apoya fuertemente la hipótesis que surgió de los resultados presentados en el Capítulo 3 acerca de que el efecto materno tiene un rol ecológico común en distintas especies, algo hasta el momento desconocido. El efecto materno genera importantes cambios en el nivel de dormición de las semillas en pos de sincronizar la emergencia a una misma ventana temporal que permita maximizar el output reproductivo de población para semillas maduras y dispersadas en diferentes momentos.

Por otro lado, este trabajo evidenció que el fotoperíodo y la temperatura materna son factores que participan en las regulaciones descriptas ante cambios en la fecha de siembra (Capítulos 2, 3 y 4). Numerosos trabajos afirman que la temperatura materna es el principal factor modulador del nivel de dormición de las semillas a la dispersión. En gran medida, esto tiene que ver con observaciones realizadas en la especie *Arabidopsis thaliana*, en cuyo caso las semillas sufren importantes cambios en su nivel de dormición a partir de una temperatura umbral de maduración (Springthorpe y Penfield 2015); el fotoperíodo, en cambio, parecería actuar en forma más sutil (Munir et al. 2001). Sin embargo, los resultados obtenidos en la presente tesis parecerían sugerir que el efecto del fotoperíodo explicaría en mayor medida que la temperatura la variabilidad observada en el comportamiento germinativo de las semillas de *P. aviculare* (Fig. 4.11) y *A. hybridus* (Cuadro S3.2) debido a cambios en la fecha de siembra. Verificar esto mediante la realización de futuros experimentos resultaría novedoso (porque no hay trabajos que evalúen la importancia relativa de estos factores) y significativo desde un punto de vista ecológico (ya que el fotoperíodo representa un indicador preciso del momento del año, menos variable que otros factores climáticos como la temperatura). Los resultados obtenidos con *P. aviculare* sugieren, a su vez, la posibilidad de que haya efectos combinados e interacciones entre ambos factores (Fig. 4.11). Avanzar en el estudio de esta regulación contribuiría a comprender el funcionamiento de las comunidades vegetales en escenarios ecológicos y climáticos cambiantes.

6.2.2. El efecto de la presencia de un canopeo sobre la dormición de semillas de *P. aviculare* y sus consecuencias sobre la emergencia a campo

Una vez emergida, una misma cohorte de plantas suele estar expuesta a variaciones en el micro-ambiente debido a la presencia de un canopeo (Holmes y Smith 1977; Thompson et al. 1977; Schmitt y Wulff 1993; Casal 2013). A pesar de afectar

numerosas variables, el efecto de la presencia de un canopeo ha sido extensamente asociado a la disminución que este determina en la R:RL del ambiente lumínico, factor que se relaciona positivamente con el nivel de dormición en semillas de distintas especies (McCullough y Shropshire 1970; Hayes y Klein 1974; Cresswell y Grime 1981; Benvenuti y Macchia 1997; Hinsberg 1998; Gutterman 2000; Brainard et al. 2005). Contrario a esta hipótesis, en la presente tesis la exposición de las semillas de *P. aviculare* durante su formación en la planta madre al ambiente generado por la presencia de un canopeo determinó una fuerte disminución del nivel de dormición (Fig. 5.4, 5.5 y 5.6). Analizando el efecto de la RFA, la R:RL (fig. 5.4, 5.7, 5.8 y 5.14) y la temperatura (Fig. 4.3, 4.5 y 4.9) se advirtió que los cambios en el nivel de dormición encontrados como resultado de la presencia de un canopeo van en la misma dirección que aquellos generados ante reducciones en la RFA, y no en la R:RL, como ha sido extensamente sugerido. Estos resultados coinciden a grandes rasgos con aquellos obtenidos recientemente por Leverett et al. (2016) y Vayda et al. (2018), en *A. thaliana*, especie para la cual se habían sugerido efectos contrarios previamente. Esto evidencia la importancia de revisar esta influencia contemplando en mayor medida las complejas alteraciones que determina en el ambiente la presencia de un canopeo.

La reducción de la germinación de semillas dispersadas en respuesta a factores asociados a la presencia de canopeos (principalmente cambios en la R:RL), ha sido documentada en semillas de numerosas especies (Cumming 1963; Fenner 1980*a,b*; Deregibus et al. 1994; Batlla et al. 2000; Kruk et al. 2006; Leverett et al. 2016), y se interpreta como un mecanismo que presentan las plantas para evitar la competencia (Ballaré et al. 1992; Ballaré y Casal 2000; Casal 2013). Sin embargo, las variaciones en el comportamiento germinativo de las semillas debido a la presencia de un canopeo durante su formación en la planta madre han sido menos documentadas y sus posibles

implicancias sobre la emergencia son prácticamente desconocidas. En la presente tesis se observó una gran variabilidad fenotípica en el comportamiento germinativo de la descendencia en función del grado de exposición a un canopeo (ver, por ejemplo, los cambios en la germinación alcanzada por semillas obtenidas de plantas crecidas bajo 0, 12 y 250 pl de trigo m^{-2} en la figura 5.4). En este caso, dicha variabilidad determinó fuertes cambios en los patrones de emergencia a campo, principalmente en los flujos de emergencia más tempranas (Fig. 5.14a) -lo cual se magnificó cuando se utilizaron semillas obtenidas de plantas expuestas a un tratamiento de sombreo (Fig. 5.14b)-. Estos cambios en la proporción de plántulas emergidas parecerían coincidir principalmente con aquellas cohortes o flujos que permitirían a las plantas de *P. aviculare* anticiparse al establecimiento de sus competidores, lo cual coincide con la hipótesis propuesta por distintos autores en trabajos para la especie *A. thaliana* (Leverett et al. 2016; Vayda et al. 2018).

En definitiva, los resultados obtenidos parecen indicar cierta diferenciación entre factores del ambiente materno de acuerdo a sus efectos sobre la dormición de las semillas y, consecuentemente, la emergencia. Así, mientras el efecto de ciertos factores asociados con la fecha de siembra de la planta madre se asociaría con la posibilidad de las plantas de sincronizar sus principales flujos de emergencia con aquella ventana temporal que les permite maximizar su capacidad reproductiva (i.e. fotoperíodo, temperatura), otros factores, como aquellos modificados por la presencia de un canopeo, parecerían contribuir a la existencia de variabilidad en los patrones de emergencia, incrementando el tamaño de las cohortes o flujos más tempranos de manera tal de optimizar la capacidad reproductiva de las plantas en contextos donde la competencia por recursos es elevada. Si se considera que el impacto del ambiente materno sobre la reproducción de la descendencia puede incidir sobre el tamaño de los bancos de

semillas y la dinámica de las poblaciones, es posible especular que también impacte sobre la adaptación y la persistencia de las plantas a un contexto ecológico determinado (Kalisz y McPeck 1992; Donohue et al. 2010; Levine et al. 2011; Gremer y Venable 2014). Por lo tanto, avanzar sobre el funcionamiento y los alcances de este fenómeno posiblemente permita profundizar nuestro entendimiento acerca de procesos determinantes de la estructura, distribución y adaptación de las poblaciones vegetales bajo condiciones naturales de campo.

6.2.3. Avances preliminares acerca de los cambios en los componentes embrionarios y de cubiertas involucrados en el efecto del ambiente materno sobre la dormición en semillas de *A. hybridus* y *P. aviculare*

Los Capítulos 3 y 5 muestran que las condiciones ambientales experimentadas por las semillas durante su desarrollo y maduración en la planta madre modulan el nivel de dormición de las semillas a través de cambios a nivel morfológico y fisiológico (Fig. 6.3). En primer lugar, como se planteó en la Hipótesis 3, el efecto del ambiente materno se encontró en parte determinado por cambios en la dormición impuesta por las cubiertas. Esto se verificó en semillas de *A. hybridus* obtenidas de plantas sembradas en distintas fechas o expuestas a distintos fotoperíodos (Fig. 3.4, 3.6, 3.7, S3.6 y S3.8), y en semillas de *P. aviculare* obtenidas de plantas expuestas o no a la presencia de un canopeo (Fig. 5.13 y S5.1). En ambos casos, las cubiertas ofrecieron restricciones al crecimiento del embrión en un nivel que dependió de las condiciones experimentadas por las semillas en la planta madre; y esto estuvo acompañado por variaciones en el grosor de las cubiertas (Fig. 3.7, S3.11, 5.10 y 5.13) detectables incluso a simple vista (Fig. 5.9). En líneas generales, efectos similares fueron encontrados en otras especies debido a cambios en la fecha de siembra (e.g.: en *Chenopodium quinoa*; Ceccato et al. 2015), la temperatura (e.g.: *Plantago lanceolata*; Lacey et al. 1997), el fotoperíodo

(e.g.: en *C. album*; Karssen 1970; y en *C. polyspermum*; Pourrat y Jacques 1975) y la RFA (e.g.: *Helianthus annuus*; Lindström y Hernández 2015), lo cual sugiere la posibilidad de que las respuestas observadas sean mediadas por mecanismos comunes en semillas de distintas especies.

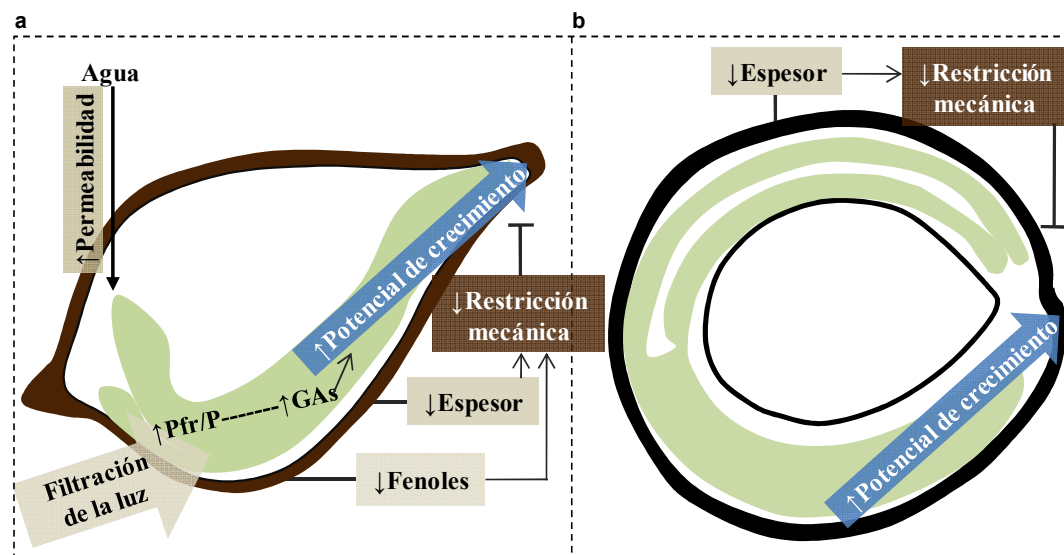


Figura 6. 3. (a) Representación esquemática de corte longitudinal de una semilla (fruto aquenio) de *P. aviculare* y sus componentes afectados por la presencia de un canopeo durante su formación en la planta madre. (b) Representación esquemática de corte transversal de una semilla de *A. hybridus* y componentes afectados por el atraso de la fecha de siembra de la planta madre, que determina la exposición de las semillas a un fotoperíodo materno más corto. Adaptado de la Figura 1.3 (Capítulo 1).

Los resultados obtenidos en el Capítulo 5 muestran que el ambiente materno regula otras propiedades de la cubierta de las semillas además de las descritas en el párrafo anterior. En este capítulo se determinó que la presencia de un canopeo durante la maduración de las semillas resultó en un aumento en el contenido de fenoles de las cubiertas (Cuadro 5.2), lo cual se manifestó a través de variaciones en su pigmentación (Fig. 5.9). A su vez, como en muchas especies, una pigmentación menos intensa de las cubiertas se asoció con una mayor permeabilidad (Fig. 5.11) y un menor nivel de dormición. De manera análoga, Macgregor et al. (2015) encontraron que el ambiente materno determina que semillas de *A. thaliana* con menor nivel de dormición presenten un menor contenido de procianidinas y una mayor permeabilidad (al tetrazolio). Más

aun, estos autores detectaron que mutantes de *Arabidopsis* con cubiertas con alta permeabilidad y/o bajas concentraciones de procianidina presentan bajos niveles de dormición primaria a cosecha. El efecto sobre la composición y permeabilidad de las cubiertas constituye un fenómeno poco comprendido, pero podría constituir una vía importante a través de la cual opera el ambiente materno sobre la dormición de las semillas.

Kendall et al. (2011) señalaron la existencia de variaciones en la fisiología de los embriones de *A. thaliana* ante cambios en el ambiente en que maduran las semillas, observándose cambios en la ABA:GA, la síntesis de ABA y la señalización de GAs. En este sentido, los resultados obtenidos en los Capítulos 3 y 5 muestran que el efecto del ambiente materno sobre el nivel de dormición no se asociaría sólo a cambios en la resistencia ofrecida por las cubiertas, sino que además promovería cambios significativos en el potencial de crecimiento de los embriones (Fig. 6.3). Esto fue evidente cuando al eliminarse la restricción de las cubiertas se alcanzaron niveles variables de germinación a bajas temperaturas de incubación en *A. hybridus* (Fig. 3.6), o cuando se incubaron embriones de *P. aviculare* bajo potenciales osmóticos contrastantes (Fig. 5.13). Los datos obtenidos en el Capítulo 5 permiten suponer que los cambios estructurales (i.e. en el grosor y permeabilidad de cubiertas; Fig. 5.9, 5.10 y 5.11) y de composición (i.e. en el contenido de fenoles; Cuadro 5.2) sufridos por las cubiertas de *P. aviculare* ante la presencia de un canopeo determinaron variaciones en la calidad de la luz que es transmitida a través de las cubiertas del fruto (Fig. 5.12). Estos cambios determinarían un aumento de la R:RL percibida por el embrión, lo cual redundaría en una mayor proporción de fitocromos en su estado activo (Cuadro 5.3) que habría determinado un mayor contenido de GAs a la dispersión (Fig. 6.3) y una mayor capacidad de los frutos para germinar en oscuridad. Aunque se requieren experimentos

adicionales para la comprobación de la vía propuesta, esta información constituye un punto de partida para futuras investigaciones.

En suma, los efectos descriptos indican que el ambiente materno representa un fenómeno que permite a las plantas sincronizar la emergencia de la generación siguiente, así como modificar el comportamiento de la descendencia ante la presencia de sus competidores. Analizar los mecanismos que subyacen a estos efectos y determinar en qué medida son comunes a distintas especies contribuiría a la comprensión acerca de cómo opera el control materno sobre el comportamiento de la descendencia.

6.3. Consideraciones acerca del efecto materno sobre el comportamiento germinativo de las poblaciones de malezas en los sistemas de cultivo

Las respuestas observadas ante cambios en la fecha de siembra de las plantas de *P. aviculare* y *A. hybridus* (Fig. 6.2) sugieren que las distintas prácticas agrícolas podrían determinar variaciones en el nivel de dormición de las semillas que ingresan en el banco del suelo, al establecer qué cohortes sobreviven y logran producir semillas. Así, aquella combinación de prácticas y decisiones que propicien la supervivencia y reproducción de cohortes más tempranas determinarían la generación de semillas con mayor nivel de dormición que el que se establecería si dichas prácticas y decisiones contribuyeran a la supervivencia y reproducción de cohortes más tardías (Fig. 6.1). Estos cambios en el nivel de dormición en función de las condiciones de producción de las semillas se han observado en numerosas especies que se comportan como malezas, por lo cual se ha sugerido extensamente que contemplar este efecto permitiría aumentar la capacidad que presentan los modelos existentes de predecir la emergencia de las malezas en el campo. Esto es un objetivo relevante ya que numerosas prácticas destinadas al control de las malezas tienen como objetivo el estado inmediatamente posterior a su emergencia

(Fenner 1987; Radosevich et al. 1997) y porque la disponibilidad de estos modelos permitiría reducir la incertidumbre en relación a la toma de decisiones destinadas al manejo de las malezas y los cultivos (Murphy y Lemerle 2006; Batlla y Benech-Arnold 2007). Los modelos desarrollados en el marco de la presente tesis (Fig. 2.8, 2.9 y 3.9) evidenciaron que las variaciones en el nivel de dormición de las semillas ante cambios en el momento en que maduran las semillas no determinan cambios significativos en los patrones temporales de emergencia. Por el contrario, contribuyen a su sincronización. Esto no quiere decir que es posible diseñar modelos que predigan ajustadamente la emergencia de las malezas sin incluir una cuantificación del efecto materno: no contemplar este efecto resultaría en una fuente de error que determinaría la obtención de modelos que no estimen adecuadamente la emergencia a campo. En este sentido, los resultados derivados de esta tesis aportan datos que pueden contribuir a la elaboración y validación de modelos que predigan los patrones temporales de emergencia de *P. aviculare* y *A. hybridus*, considerando el efecto del ambiente materno.

Por otro lado, el efecto de la presencia del canopeo de un cultivo sobre la germinación de las semillas ya dispersadas que forman el banco del suelo ha sido analizado en diferentes especies, y se conoce, en gran medida, cómo las variaciones que los cultivos determinan en el ambiente que exploran las semillas dispersadas pueden ser manipuladas para controlar la emergencia de distintas malezas (Cumming 1963; Fenner 1980a,b; Deregibus et al. 1994; Batlla et al. 2000; Kruk et al. 2006). En cambio, los resultados obtenidos en el Capítulo 5 utilizando semillas de *P. aviculare* expuestas al canopeo de un cultivo de trigo durante su formación en la planta madre representan un conjunto de respuestas menos conocidas y cuyas consecuencias en relación a la dinámica poblacional de las malezas han sido poco abordadas. Estos resultados muestran que el cultivo en sí mismo determina importantes variaciones en el nivel de

dormición que presentan las semillas que ingresan al banco del suelo cada año (Fig. 5.4, 5.5, 5.6 y 5.14), algo no contemplado en los modelos predictivos de emergencia disponibles actualmente y escasamente abordado en programas que busquen estudiar el efecto del manejo de los cultivos sobre la dinámica de los bancos de semillas. Estos modelos podrían, por ejemplo, considerar las posibles consecuencias que tendrían sobre la dormición de las semillas la estructura y homogeneidad del cultivo, y en función de ello predecir efectos sobre la emergencia de la generación siguiente. A su vez, la exposición a un canopeo en la planta madre determinó fuertes cambios en la anatomía y composición de las semillas, los cuales podrían alterar la viabilidad de las mismas en los bancos del suelo (Fig. 5.9 y 5.10; Cuadro 5.2). Estas observaciones no sólo abren nuevas interrogantes, sino que evidencian la complejidad que subyace a los posibles efectos que puede desencadenar un determinado manejo sobre la dinámica y longevidad de los bancos de semillas.

En definitiva, el hecho de que se hayan observado importantes cambios en el nivel de dormición de las semillas en función del ambiente materno evidencia la relevancia de contemplar estos efectos en programas que busquen analizar las posibles reacciones de las poblaciones de malezas a las prácticas agronómicas y diseñar nuevas líneas de acción (Murphy y Lemerle 2006). Profundizar nuestro conocimiento acerca de estas respuestas permitiría eventualmente predecir el grado de éxito y persistencia de numerosas especies malezas en los sistemas productivos. Esto posiblemente permitiría, junto a otros factores, explicar y predecir la evolución de estas especies en escenarios futuros y sentar las bases para el desarrollo de tecnologías de manejo de malezas más eficaces y sustentables (Buhler et al. 1997; Neve et al. 2009; Westwood et al. 2018).

6.4. Consideraciones sobre el efecto del ambiente materno en un contexto de cambio climático

Además de otras consecuencias como un aumento en las concentraciones atmosféricas de CO₂ y una alteración de los regímenes de lluvia, se proyecta que el calentamiento global cause aumentos en las temperaturas medias y reduzca la amplitud de las temperaturas diurnas, determinando aumentos en la temperatura mínima mayores que en la máxima (IPCC 2018). Distintos trabajos señalan que estos cambios podrían afectar la dinámica de las poblaciones vegetales, la composición de especies y la diversidad de las comunidades vegetales, lo cual tendría consecuencias para los procesos ecológicos, la agricultura, la silvicultura, la salud humana y la economía global. Sin embargo, se sabe poco sobre el efecto real que los cambios de temperatura podrían tener sobre las diferentes etapas de desarrollo de las plantas y, en consecuencia, la capacidad reproductiva de las mismas (Hedhly et al. 2009; Huang et al. 2018).

La temperatura que exploran las semillas durante su maduración en la planta madre afecta distintos componentes del fenotipo de las mismas, muchos de los cuales resultan determinantes claves para el éxito reproductivo de las plantas. Por ejemplo, en *P. aviculare*, la temperatura es un importante modulador del nivel de dormición de las semillas a la dispersión, y en interacción con la temperatura del suelo modula la dinámica de los cambios en el nivel de dormición post-dispersión (Fig. 4.3 y 4.5). Los resultados obtenidos en el Capítulo 4 sugieren que, como se ha encontrado en *A. thaliana* (Kendall y Penfield 2012; Huang et al. 2014, 2018), aumentos de la temperatura podrían afectar el comportamiento germinativo de las semillas (al disminuir no sólo el nivel de dormición primaria de las semillas, sino también al modificar la tasa de inducción en dormición secundaria; Fig. 4.5). Aunque estos efectos no pudieron ser verificados bajo condiciones de campo (Fig. 4.9), los cambios en el

comportamiento germinativo podrían influenciar los patrones de emergencia de plántulas en el campo (Fig. 4.10), los cuales definen el ambiente al que estarán expuestos los nuevos individuos durante sus etapas reproductivas. En este sentido, hay trabajos que indican que esto ya habría impactado sobre la fenología de las plantas al determinar que la ‘primavera biológica’ sea cada vez más temprana y el ‘invierno biológico’, más tardío (Penuelas et al. 2009; Springthorpe y Penfield 2015). Tales variaciones podrían resultar en crecientes discrepancias entre los fenotipos actuales y los óptimos, al conducir a cierto desacoplamiento entre factores que modulan las tasas de crecimiento y desarrollo de las plantas previamente vinculados, tales como el fotoperíodo y la temperatura (Anderson 2016). Por ello, se ha conjeturado extensamente que el cambio climático podría deprimir la capacidad reproductiva de las plantas, afectar la adaptación local a corto plazo, y reducir el potencial adaptativo y migratorio de las poblaciones (Kingsolver et al. 2013; Cochrane et al. 2015; Anderson 2016). Sin embargo, a lo largo de esta tesis se recopilieron distintas evidencias que indican que el efecto materno determina importantes variaciones en el fenotipo de la descendencia que permite a la siguiente generación producir significativamente más semillas que las que produciría si ese efecto no tuviera lugar (por ejemplo, ver figuras 2.10, 2.12 y 3.10). Por lo tanto, cabe preguntarse si el efecto materno podría contribuir a que las plantas respondan adaptativamente a los nuevos contextos climáticos al modificar la distribución fenotípica del comportamiento germinativo de la descendencia en pos de ‘reacomodar’ su fenología a las nuevas condiciones. Así, el control materno sobre la dormición podría constituir una vía de generación de respuestas plásticas que podrían actuar como ‘buffer’ a los cambios en el ambiente producto del cambio climático.

Por otro lado, a pesar de que el momento de emergencia es un determinante clave del éxito reproductivo de las plantas, y que se encuentra influenciando por procesos

fuertemente modulados por la temperatura, este evento ha sido escasamente considerado en estudios que buscan predecir las consecuencias de un potencial calentamiento global sobre el comportamiento de las poblaciones vegetales (Huang et al. 2018). Los principales esfuerzos se han destinado a analizar y modelar posibles efectos del aumento de la temperatura sobre la reproducción de las plantas (revisado por Hedhly et al. 2009). Este enfoque reduccionista ha sido criticado por trabajos que muestran que la germinación y supervivencia de las plántulas son los procesos más susceptibles y que, por lo tanto, no contemplarlos puede originar una subestimación de las consecuencias del cambio climático sobre la capacidad reproductiva de las plantas (Cochrane et al. 2015). En esta misma línea de pensamiento, otros trabajos plantean que es crucial analizar la forma en que el cambio climático, al incidir sobre la temperatura del suelo, puede modificar la dinámica, estabilidad y longevidad de los bancos de semilla (Ooi et al. 2009). Por ejemplo, hay autores que señalan que un aumento de la temperatura durante el invierno podría causar una menor estratificación, lo que resultaría en que una menor fracción de la población de semillas germine a principios de primavera. Sin embargo, este análisis no considera que un menor nivel de dormición de las semillas debido a una temperatura materna más alta podría limitar el impacto del calentamiento global propuesto. Cabe preguntarse, entonces, si existe la posibilidad de analizar estos efectos “aguas más arriba” considerando como punto de partida el efecto del ambiente materno, ya que este fenómeno actúa sobre aspectos fundamentales de la morfología, composición y fisiología de las semillas, la emergencia y la capacidad reproductiva de las plantas. Como sugieren Springthorpe y Penfield (2015) una aproximación que integre las distintas fases claves del ciclo de vida de las plantas posiblemente permita revelar nuevas respuestas de las plantas e identificar características emergentes.

6.5. Implicancias para futuras investigaciones

En los cuatro capítulos de resultados se observó un importante efecto del ambiente materno sobre la respuesta de las semillas a los factores terminadores de la dormición (luz, alternancia térmica y la interacción entre estos; aunque no se han reportado los resultados en la presente tesis, cabe mencionar que en experimentos complementarios también se observaron variaciones en la respuesta de las semillas a la disponibilidad de nitratos en el medio). La influencia del ambiente materno sobre la respuesta HIR no ha sido abordada en el marco de la presente tesis y ha sido en líneas generales poco analizada. Desde una perspectiva ecológica, las respuestas de las semillas a los factores terminadores de la dormición han sido extensamente interpretadas como un mecanismo muy preciso que permite a las plantas germinar y emerger en el ‘lugar’ adecuado. Sin embargo, no hay trabajos que indaguen sobre las implicancias ecológicas del efecto del ambiente materno sobre la respuesta de las semillas a la luz y la alternancia térmica luego de su dispersión.

A lo largo de este trabajo de tesis surgieron fuertes evidencias de que el efecto del ambiente materno sobre la sincronización de la emergencia y el éxito reproductivo de las plantas -sugerido por distintos autores- podría ser común a distintas especies. Este efecto fue probado bajo condiciones de campo en dos especies anuales primaverales (Capítulos 2 y 3). Verificar la existencia de respuestas similares en otras especies permitiría comprender con mayor profundidad el significado ecológico y adaptativo del efecto del ambiente materno sobre la dormición. A su vez, estudiar este efecto en especies otoño-invernales e invernales-facultativas resultaría valioso para establecer el alcance de este fenómeno. Por otro lado, futuras investigaciones deberían estudiar posibles interacciones entre la temperatura y el fotoperíodo con el fin de jerarquizar el efecto de estos factores y desarrollar modelos que contemplen sus efectos

conjuntos. La aplicación de estos modelos permitiría no solo simular con mayor precisión la dinámica de germinación de los bancos de semillas, sino también analizar posibles vías de reacción de las plantas ante un contexto de cambio global.

El presente trabajo ha alcanzado una caracterización limitada acerca de las posibles implicancias del efecto de la presencia de un canopeo vegetal sobre la capacidad reproductiva de la descendencia. Los resultados obtenidos (Capítulo 5) sugieren que establecer las implicancias de este efecto podría representar un verdadero avance en nuestra comprensión acerca del funcionamiento de las plantas en hábitats donde la competencia entre individuos es elevada. Cabe señalar que el entendimiento de este fenómeno requiere avanzar sobre los factores y mecanismos involucrados en su regulación. Avanzar en estos aspectos en otras especies que se comporten como maleza permitiría, a su vez, dimensionar la importancia de incluir los posibles efectos de la presencia de un canopeo en esquemas de decisión destinados al control y manejo de malezas. En este sentido, cuantificar dichos efectos resultaría una herramienta útil para satisfacer los distintos fines mencionados.

Trabajos realizados en *A. thaliana* sugieren que el ambiente materno tiene el potencial de modificar los patrones de emergencia a campo de la descendencia, al influir sobre su dinámica de inducción en dormición secundaria. Sin embargo, el efecto del ambiente materno sobre la inducción en dormición secundaria de las semillas ha sido poco evaluado bajo condiciones de campo. La presente tesis brinda evidencias acerca de cómo el ambiente materno influye sobre la tasa de inducción en dormición secundaria en semillas de *P. aviculare*. A diferencia de lo sugerido para *A. thaliana*, este trabajo muestra que el efecto del ambiente materno sobre la inducción en dormición contribuye a la sincronización de la emergencia observada en el campo. Resulta relevante desarrollar nuevos experimentos que busquen analizar cómo funciona este efecto en

otras especies. En este sentido, los resultados obtenidos en el Capítulo 3 sugieren que las semillas de *A. hybridus* podrían entrar en dormición secundaria dadas ciertas circunstancias y permiten proponer a esta especie para estudios futuros.

Los mecanismos a través de los cuales el ambiente materno modula el comportamiento germinativo de la descendencia son poco conocidos. Los resultados obtenidos en esta tesis permiten resaltar la importancia de evaluar en qué medida el efecto materno sobre el grosor de las cubiertas y la resistencia mecánica ofrecida por estas a la expansión del embrión representan una función central en esta modulación. Las variaciones detectadas en el grosor, la composición y la pigmentación de las cubiertas mostraron, en líneas generales, similitudes con resultados reportados en la bibliografía para otras especies. Futuras investigaciones deberían, no sólo dilucidar los efectos de estas variaciones sobre las vías hormonales vinculadas al control de la dormición, sino también establecer si constituyen efectos comunes en semillas de distintas especies. Por otro lado, los resultados de esta tesis mostraron importantes diferencias en el nivel de dormición embrionaria ante cambios en las condiciones ambientales (Capítulo 3) y micro-ambientales (Capítulo 5) de maduración de las semillas (*A. hybridus*) y frutos (*P. aviculare*). Cabe preguntarse si los cambios en el grosor, la composición y la pigmentación de las cubiertas podrían explicar en parte estas diferencias, al incidir sobre la composición espectral de luz que transmiten a la semilla y modificar la proporción de formas activas e inactivas de los fitocromos. El hecho de que en cada capítulo se haya registrado que el ambiente materno afecta de manera significativa las respuestas de las semillas a la luz apoya esta idea. En suma, los resultados obtenidos en esta tesis brindan las bases para diagramar futuros estudios que busquen analizar los mecanismos involucrados en la modulación que ejerce el ambiente materno sobre el nivel de dormición de la descendencia.

BIBLIOGRAFÍA

- Allen PS, Benech-Arnold RL, Batlla D, Bradford KJ. 2007.** Modeling of seed dormancy. In: Bradford, K.J. and Nonogaki H, ed. Seed development, dormancy and germination. Ames (Iowa): Blackwell Publishing, 72–112.
- Anderson JT. 2016.** Plant fitness in a rapidly changing world. *New Phytologist* **210**: 81–87.
- Aphalo PJ, Ballaré CL, Scopel AL. 1999.** Plant-plant signalling, the shade-avoidance response and competition. *Journal of Experimental Botany* **50**: 1629–1634.
- Arana MV, de Miguel LC, Sanchez RA. 2006.** A phytochrome-dependent embryonic factor modulates gibberellin responses in the embryo and micropylar endosperm of *Datura ferox* seeds. *Planta*, **223**: 847.
- Arana MV, Burgin MJ, de Miguel LC, Sánchez RA. 2007.** The very-low-fluence and high-irradiance responses of the phytochromes have antagonistic effects on germination, mannan-degrading activities, and DfGA3ox transcript levels in *Datura ferox* seeds. *Journal of experimental botany* **58**: 3997–4004.
- Arana MV, Gonzalez-Polo M, Martinez-Meier A, Gallo LA, Benech-Arnold RL, Sánchez RA, Batlla D. 2016.** Seed dormancy responses to temperature relate to *Nothofagus* species distribution and determine temporal patterns of germination across altitudes in Patagonia. *New Phytologist* **209**: 507–520.
- Arana MV, Tognacca RS, Estravis-Barcalá M, Sánchez RA, Botto JF. 2017.** Physiological and molecular mechanisms underlying the integration of light and temperature cues in *Arabidopsis thaliana* seeds. *Plant, Cell & Environment*, **40**: 3113–3121.
- Assad R, Reshi ZA, Jan S, Rashid I. 2017.** Biology of Amaranths. *The Botanical Review* **83**: 382–436.
- Auge GA, Blair LK, Burghardt LT, Coughlan J, Edwards B, Leverett LD, Donohue K. 2015.** Secondary dormancy dynamics depends on primary dormancy status in *Arabidopsis thaliana*. *Seed Science Research* **25**: 230–246.
- Auge GA, Blair LK, Neville H, Donohue K. 2017.** Maternal vernalization and vernalization-pathway genes influence progeny seed germination. *New Phytologist* **216**: 388–400.
- Ballaré CL, Casal JJ. 2000.** Light signals perceived by crop and weed plants. *Field Crops Research* **67**: 149–160.
- Ballaré CL, Sánchez RA, Scopel AL, Casal JJ, Ghera CM. 1987.** Early detection of neighbour plants by phytochrome perception of spectral changes in reflected sunlight. *Plant, Cell & Environment* **10**: 551–557.
- Ballaré CL, Scopel AL, Sánchez RL, Radosevich SR. 1992.** Photomorphogenic processes in the agricultural environment. *Photochemistry and Photobiology* **56**: 777–788.
- Barton L V. 1962.** The germination of weed seeds. *Weeds* **10**: 174–182.
- Baskin JM, Baskin CC. 1985.** The annual dormancy cycle in buried weed seeds: a continuum. *BioScience* **35**: 492–498.
- Baskin CC, Baskin JM. 1988.** Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. *American Journal of Botany* **75**: 286–305.
- Baskin JM, Baskin CC. 1990.** The role of light and alternating temperatures on germination of *Polygonum aviculare* seeds exhumed on various dates. *Weed Research* **30**: 397–402.
- Baskin JM, Baskin CC. 2004.** A classification system for seed dormancy. *Seed*

Science Research **14**: 1–16.

Batlla D, Benech-Arnold RL. 2003. A quantitative analysis of dormancy loss dynamics in *Polygonum aviculare* L. seeds: Development of a thermal time model based on changes in seed population thermal parameters. *Seed Science Research* **13**: 55–68.

Batlla D, Benech-Arnold RL. 2004. A predictive model for dormancy loss in *Polygonum aviculare* L. seeds based on changes in population hydrotime parameters. *Seed Science Research* **14**: 277–286.

Batlla D, Benech-Arnold R. 2005. Changes in the light sensitivity of buried *Polygonum aviculare* seeds in relation to cold-induced dormancy loss: Development of a predictive model. *New Phytologist* **165**: 445–452.

Batlla D, Benech-Arnold RL. 2007. Predicting changes in dormancy level in weed seed soil banks: implications for weed management. *Crop Protection* **26**: 189–197.

Batlla D, Benech-Arnold RL. 2010. Predicting changes in dormancy level in natural seed soil banks. *Plant Molecular Biology* **73**: 3–13.

Batlla D, Benech-Arnold RL. 2015. A framework for the interpretation of temperature effects on dormancy and germination in seed populations showing dormancy. *Seed Science Research* **25**: 147–158.

Batlla D, Grundy A, Dent KC, Clay HA, Finch-Savage WE. 2009. A quantitative analysis of temperature-dependent dormancy changes in *Polygonum aviculare* seeds. *Weed Research* **49**: 428–438.

Batlla D, Kruk BC, Benech-Arnold RL. 2000. Very early detection of canopy presence by seeds through perception of subtle modifications in red:far red signals. *Functional Ecology* **14**: 195–202.

Batlla D, Verges V, Benech-Arnold RL. 2003. A quantitative analysis of seed responses to cycle-doses of fluctuating temperatures in relation to dormancy: Development of a thermal time model for *Polygonum aviculare* L. seeds. *Seed Science Research* **13**: 197–207.

Bello IA, Owen MD, Hatterman-Valentp HM. 1995. Effect of shade on velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) growth, seed production, and dormancy. *Weed Technology* **9**: 452–455.

Benech-Arnold RL, Sánchez RA, Forcella F, Kruk BC, Ghersa CM. 2000. Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research* **67**: 105–122.

Benvenuti S, Macchia M. 1997. Light environment, phytochrome and germination of *Datura stramonium* L. seeds. *Environmental and Experimental Botany* **38**: 61–71.

Bodrone MP, Rodríguez MV., Arisnabarreta S, Batlla D. 2017. Maternal environment and dormancy in sunflower: the effect of temperature during fruit development. *European Journal of Agronomy* **82**: 93–103.

Botto JF, Sánchez RA, Whitelam GC, Casal JJ. 1996. Phytochrome A mediates the promotion of seed germination by very low fluences of light and canopy shade light in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **110**: 439–444.

Bouwmeester HJ, Karssen CM. 1992. The dual role of temperature in the regulation of the seasonal changes in dormancy and germination of seeds of *Polygonum persicaria* L. *Oecologia* **90**: 88–94.

Brainard DC, Bellinder RR, Ditommaso A. 2005. Effects of canopy shade on the morphology, phenology, and seed characteristics of Powell amaranth (*Amaranthus powellii*). *Weed Science* **53**: 175–186.

Buhler DD, Hartzler RG, Forcella F. 1997. Implications of weed seedbank dynamics

to weed management. *Weed Science* **45**: 329–336.

Burghardt LT, Edwards BR, Donohue K. 2016. Multiple paths to similar germination behavior in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist* **209**: 1301–1312.

Burghardt LT, Metcalf CJE, Wilczek AM, Schmitt J, Burghardt LT, Metcalf CJE, Wilczek AM, Schmitt J, Donohue K. 2015. Modeling the influence of genetic and environmental variation on the expression of plant life cycles across landscapes. *The American Naturalist* **185**: 212–227.

Caldwell CR, Britz SJ, Mirecki RM. 2005. Effect of temperature, elevated carbon dioxide, and drought during seed development on the isoflavone content of dwarf soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] grown in controlled environments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**: 1125–1129.

Carpita NC, Nabors MW, Ross CW, Peteric NL. 1979. The growth physics and water relations of red light induced germination in lettuce seeds. III. Changes in the osmotic and pressure potential in the embryonic axes of red and far red-treated seeds. *Planta* **144**: 217–24.

Casal JJ. 2013. Photoreceptor signaling networks in plant responses to shade. *Annual Review of Plant Biology* **64**: 403–427.

Casal JJ, Luccioni LG, Oliverio KA, Boccalandro HE. 2003. Light, phytochrome signalling and photomorphogenesis in *Arabidopsis*. *Photochemical & Photobiological Sciences* **2**: 625–636.

Casal JJ, Sánchez RA. 1998. Phytochrome and seed germination. *New Phytologist* **8**: 317–329.

Casal JJ, Smith H. 1988. Persistent effects of changes in phytochrome status on internode growth in light-grown mustard: Occurrence, kinetics and locus of perception. *Planta* **175**: 214–220.

Cavers P, Harper J. 1966. Germination polymorphism in *Rumex crispus* and *Rumex obtusifolius*. *Journal of Ecology* **54**: 367–382.

Ceccato D, Bertero D, Batlla D, Galati B. 2015. Structural aspects of dormancy in quinoa (*Chenopodium quinoa*): importance and possible action mechanisms of the seed coat. *Seed Science Research* **25**: 267–275.

Cendán C, Sampedro L, Zas R. 2013. The maternal environment determines the timing of germination in *Pinus pinaster*. *Environmental and Experimental Botany* **94**: 66–72.

Chadoeuf-Hannel R, Barralis G. 1982. Comportement germinatif des graines d'*Amaranthus retroflexus* L. récoltées dans les conditions naturelles. *Weed Research* **22**: 361–369.

Chen M, Macgregor DR, Dave A, Florance H, Moore K, Paszkiewicz K, Smirnoff N, Graham IA, Penfield S. 2014. Maternal temperature history activates Flowering Locus T in fruits to control progeny dormancy according to time of year. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**: 18787–18792.

Chiang GCK, Barua D, Dittmar E, Kramer EM, Rubio De Casas R, Donohue K. 2013. Pleiotropy in the wild: the dormancy gene *Dog1* exerts cascading control on life cycles. *Evolution: International Journal of Organic Evolution* **67**: 883–893.

Cochrane A, Yates CJ, Hoyle GL, Nicotra AB. 2015. Will among-population variation in seed traits improve the chance of species persistence under climate change? *Ecology and Biogeography* **24**: 12–24.

Contreras S, Bennett MA, Metzger JD, Tay D, Nerson H. 2009. Red to far-red ratio during seed development affects lettuce seed germinability and longevity. *HortScience* **44**: 130–134.

- Costea M, Sanders A, Waines G. 2001.** Preliminary results toward a revision of the *Amaranthus hybridus* species complex (Amaranthaceae). *Sida, Contributions to Botany* **19**: 931–974.
- Costea M, Tardif FJ. 2003.** The biology of Canadian weeds. 126. *Amaranthus albus* L., *A. blitoides* S. Watson and *A. blitum* L. *Canadian Journal of Plant Science* **83**: 1039–1066.
- Costea M, Tardif FJ. 2005.** The biology of Canadian weeds. 131. *Polygonum aviculare* L. *Canadian Journal of Plant Science* **85**: 481–506.
- Coughlan JM, Saha A, Donohue K. 2017.** Effects of pre- and post-dispersal temperature on primary and secondary dormancy dynamics in contrasting genotypes of *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *Plant Species Biology* **32**: 210–222.
- Courtney AD. 1968.** Seed dormancy and field emergence in *Polygonum aviculare*. *Journal of Applied Ecology* **5**: 675–684.
- Cresswell EG, Grime JP. 1981.** Induction of a light requirement during seed development and its ecological consequences. *Nature* **291**: 585.
- Cristaudo A, Gresta F, Luciani F, Restuccia A. 2007.** Effects of after-harvest period and environmental factors on seed dormancy of *Amaranthus* species. *Weed Research* **47**: 327–334.
- Cristaudo A, Gresta F, Restuccia A, Catara S, Onofri A. 2016.** Germinative response of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) to environmental conditions: Is there a seasonal pattern? *Plant Biosystems* **150**: 583–591.
- Cumming G. 1963.** The dependence of germination on photoperiod, light quality, and temperature, in *Chenopodium* Spp. *Canadian Journal of Botany* **41**: 1211–1233.
- Debeaujon I, Le KM, Koornneef M. 2000.** Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **122**: 403–413.
- Debeaujon I, Lepiniec L, Pourcel L, Routaboul J. 2007.** Seed coat development and dormancy. In: Bradford, K.J. and Nonogaki H, ed. *Seed development, dormancy and germination*. Ames (Iowa): Blackwell Publishing, 25–42.
- Deregibus VA, Casal JJ, Jacobo EJ, Gibson D, Kauffman M, Rodriguez AM. 1994.** Evidence that heavy grazing may promote the germination of *Lolium multiflorum* seeds via phytochrome-mediated perception of high red/far-red ratios. *Functional Ecology* **8**: 536–542.
- Donohue K. 2005.** Seeds and seasons: interpreting germination timing in the field. *Seed Science Research* **15**: 175–187.
- Donohue K. 2009.** Completing the cycle: Maternal effects as the missing link in plant life histories. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364**: 1059–1074.
- Donohue K. 2013.** Why ontogeny matters during adaptation: developmental niche construction and pleiotropy across the life cycle in *Arabidopsis thaliana*. *Evolution* **68**: 32–47.
- Donohue K, Dorn L, Griffith C, Kim E, Aguilera A, Polisetty CR, Schmitt J. 2005.** Environmental and genetic influences on the germination of *Arabidopsis thaliana* in the field. *Evolution* **59**: 740–757.
- Donohue K, Rubio de Casas R, Burghardt L, Kovach K, Willis CG. 2010.** Germination, postgermination adaptation, and species ecological ranges. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **41**: 293–319.
- Edwards B, Burghardt LT, Kovach KE, Donohue K. 2017.** Canalization of seasonal phenology in the presence of developmental variation: Seed dormancy cycling in an annual weed. *Integrative and Comparative Biology* **57**: 1021–1039.

- Edwards BR, Burghardt LT, Zapata-garcia M, Donohue K. 2016.** Maternal temperature effects on dormancy influence germination responses to water availability in *Arabidopsis thaliana*. *Environmental and Experimental Botany* **126**: 55–67.
- Ehrenfeld JG. 2010.** Ecosystem consequences of biological invasions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **41**: 59–80.
- Ellis RH, Covell S, Roberts EH, Summerfield RJ. 1986.** The influence of temperature on seed germination rate in grain legumes. *Journal of Experimental Botany* **37**: 1503–1515.
- Elwell AL, Gronwall DS, Miller ND, Spalding EP, Brooks TLD. 2011.** Separating parental environment from seed size effects on next generation growth and development in *Arabidopsis*. *Plant, Cell & Environment* **34**: 291–301.
- Evenari M, Koller D, Guterman Y. 1966.** Effects of the environment of the mother plant on germination by control of seed-coat permeability to water in *Ononis Sioula* Guss. *Australian Journal of Biological Sciences* **19**: 1007–1016.
- Faccini D, Barat E. 1989.** A study of the germination behaviour of *Amaranthus quitensis* H.B.K. *Malezas* **17**: 53.
- Faccini D, Vitta JI. 2005.** Germination characteristics of *Amaranthus quitensis* as affected by seed production date and duration of burial. *Weed Research* **45**: 371–378.
- Feng F, Li M, Ma F, Cheng L. 2013.** Phenylpropanoid metabolites and expression of key genes involved in anthocyanin biosynthesis in the shaded peel of apple fruit in response to sun exposure. *Plant Physiology and Biochemistry* **69**: 54–61.
- Fenner M. 1980a.** The induction of a light requirement in *Bidens pilosa* seeds by leaf canopy shade. *New Phytologist* **84**: 103–106.
- Fenner M. 1980b.** The inhibition of germination of *Bidens pilosa* seeds by leaf canopy shade in some natural vegetation types. *New Phytologist* **84**: 95–101.
- Fenner M. 1987.** Seedlings. *New Phytologist* **106**: 35–47.
- Fenner M. 1991.** The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Science Research* **1**: 75–84.
- Fenner M, Thompson K. 2005.** *The ecology of seeds*. Cambridge University Press.
- Finch-savage WE, Footitt S. 2017.** Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. *Journal of Experimental Botany* **68**: 843–856.
- Finch-Savage WE, Footitt S. 2012.** To germinate or not to germinate: A question of dormancy relief not germination stimulation. *Seed Science Research* **22**: 243–248.
- Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G. 2006.** Seed dormancy and the control of germination. *The New Phytologist* **171**: 501–523.
- Footitt S, Walley PG, Lynn JR, Hambidge AJ, Penfield S, Finch-Savage WE. 2019.** Trait analysis reveals DOG1 determines initial depth of seed dormancy, but not changes during dormancy cycling that result in seedling emergence timing. *New Phytologist*.
- Frankland B, Taylorson R. 1983.** Light control of seed germination. In: Shropshire, W. and Mohr H, ed. *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Photomorphogenesis*. Berlin: Springer-Verlag, 428–456.
- Frost RA. 1971.** Aspects of the comparative biology of three weedy species of *Amaranthus* in southwestern Ontario. Phd Thesis. Western University, Ontario, Canada.
- Froud-Williams RJ, Chancellor RJ, Drennan DSH. 1984.** The effects of seed burial and soil disturbance on emergence and survival of arable weeds in relation to minimal cultivation. *Journal of Applied Ecology* **21**: 629–641.
- Galloway LF. 2001a.** The effect of maternal and paternal environments on seed characters in the herbaceous plant *Campanula americana* (Campanulaceae). *American*

Journal of Botany **88**: 832–840.

Galloway LF. 2001b. Parental environmental effects on life history in the herbaceous planta *Campanula americana*. *Ecology* **82**: 2781–2789.

Galloway LF. 2005. Maternal effects provide phenotypic adaptation to local environmental conditions. *New Phytologist* **166**: 93–100.

Gambetta GA, Lagarias JC. 2001. Genetic engineering of phytochrome biosynthesis in bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **98**: 10566–10571.

Ghorbani R, Seel W, Leifert C. 1999. Effects of environmental factors on germination and emergence of *Amaranthus retroflexus*. *Weed Science* **47**: 505–510.

Gremer JR, Kimball S, Venable DL. 2016. Within-and among-year germination in Sonoran Desert winter annuals: bet hedging and predictive germination in a variable environment. *Ecology Letters* **19**: 1209–1218.

Gremer JR, Venable DL. 2014. Bet hedging in desert winter annual plants: optimal germination strategies in a variable environment. *Ecology Letters* **17**: 380–387.

Gremer JR, Wilcox CJ, Chiono A, Suglia E, Schmitt J. 2019. Germination timing and chilling exposure create contingency in life history and influence fitness in the native wildflower *Streptanthus tortuosus*. *Journal of Ecology*: 1–17.

Gutterman Y. 2000. *Maternal effects on seeds during development. Seeds: The ecology of regeneration in plant communities* (EM Fenner, Ed.). Wallingford: CAB International.

Gutterman Y, Evenari M. 1972. The influence of day length on seed coat colour, an index of water permeability, of the desert annual *Ononis Sicula* Guss. *The Journal of Ecology* **60**: 713–719.

Hayes RG, Klein WH. 1974. Spectral quality influence of light during development of *Arabidopsis thaliana* plants in regulating seed germination. *Plant and Cell Physiology* **653**: 643–653.

Hartmann K. 1966. A general hypothesis to interpret high energy phenomena of photomorphogenesis on the basis of phytochrome. *Photochemistry and Photobiology* **5**: 349–366.

He H, de Souza Vidigal D, Basten Snoek L, Schnabel S, Nijveen H, Hilhorst H, Bentsink L. 2014. Interaction between parental environment and genotype affects plant and seed performance in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany* **65**: 6603–6615.

Hedhly A, Hormaza JI, Herrero M. 2009. Global warming and sexual plant reproduction. *Trends in Plant Science* **14**: 30–36.

Hinsberg A. Van. 1998. Maternal and ambient environmental effects of light on germination in *Plantago lanceolata*: correlated responses to selection on leaf length. *Functional Ecology* **12**: 825–833.

Holmes MG, Smith H. 1977. The function of phytochrome in the natural environment—II. The influence of vegetation canopies on the spectral energy distribution of natural daylight. *Photochemistry and Photobiology* **25**: 539–545.

Huang Z, Footitt S, Finch-savage WE. 2014. The effect of temperature on reproduction in the summer and winter annual *Arabidopsis thaliana* ecotypes Bur and Cvi. *Annals of Botany* **113**: 921–929.

Huang Z, Footitt S, Tang A, Finch-Savage WE. 2018. Predicted global warming scenarios impact on the mother plant to alter seed dormancy and germination behaviour in *Arabidopsis*. *Plant, Cell & Environment* **41**: 187–197.

Huang Z, Liu S, Bradford KJ, Huxman TE, Venable DL. 2016. The contribution of germination functional traits to population dynamics of a desert plant community. *Ecology* **97**: 250–261.

- Huang Z, Ölçer-Footitt H, Footitt S, Finch-Savage WE. 2015.** Seed dormancy is a dynamic state: Variable responses to pre- and post-shedding environmental signals in seeds of contrasting *Arabidopsis* ecotypes. *Seed Science Research* **25**: 159–169.
- Imaizumi T, Auge G, Donohue K. 2017.** Photoperiod throughout the maternal life cycle, not photoperiod during seed imbibition, influences germination in *Arabidopsis thaliana*. *American Journal of Botany* **104**: 516–526.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Global warming of 1.5 °C. 2018.** Cambridge, UK & New York: Cambridge University Press.
- Irving DW, Betschart AA, Saunders RM. 1981.** Morphological studies on *Amaranthus cruentus*. *Journal of Food Science* **46**: 1170–1174.
- Jha P, Norsworthy JK, Riley MB, Bridges W. 2010a.** Shade and plant location effects on germination and hormone content of Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) seed. *Weed Science* **58**: 16–21.
- Jha P, Norsworthy JK, Riley MB, Jr WB. 2010b.** Annual changes in temperature and light requirements for germination of Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) seeds retrieved from soil. *Weed Science* **58**: 426–432.
- Johansen DA. 1940.** *Plant microtechnique*. Mc Graw-Hill, New York, USA.
- Kalisz S. 1986.** Variable selection on the timing of germination in *Collinsia verna* (scrophulariaceae). *Evolution* **40**: 479–491.
- Kalisz S, McPeck MA. 1992.** Demography of and age-structured annual: resampled projection matrices, elasticity analyses, and seed bank effects. *Ecology* **73**: 1082–1093.
- Karssen CM. 1970.** The light promoted germination of the seeds of *Chenopodium album* L. III. Effect of the photoperiod during growth and development of the plants on the dormancy of the produced seeds. *Acta Botanica Neerlandica* **19**: 81–94.
- Karssen CM. 1982.** Seasonal patterns of dormancy in weed seeds. In: Khan AA, ed. *The physiology and biochemistry of dormancy and germination of seeds*. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 243–270.
- Kelly JM, Lagarias JC. 1985.** Photochemistry of 124-kilodalton *Avena* phytochrome under constant illumination in vitro. *Biochemistry* **24**: 6003–6010.
- Kendall SL, Hellwege A, Marriot P, Whalley C, Graham IA, Penfield S. 2011.** Induction of dormancy in *Arabidopsis* summer annuals requires parallel regulation of DOG1 and hormone metabolism by low temperature and CBF transcription factors. *The Plant Cell* **23**: 2568–2580.
- Kendall S, Penfield S. 2012.** Maternal and zygotic temperature signalling in the control of seed dormancy and germination. *Seed Science Research* **22**: S23–S29.
- Kepeczynski J, Bihun M. 2002.** Induction of secondary dormancy in *Amaranthus caudatus* seeds. *Plant Growth Regulation* **38**: 135–140.
- Khan AA, Karssen CM. 1980.** Induction of secondary dormancy in *Chenopodium bonus-henricus* L. seeds by osmotic and high temperature treatments and its prevention by light and growth regulators. *Plant Physiology* **66**: 175–181.
- Khan M, Ungar I. 1998.** Seed germination and dormancy of *Polygonum aviculare* L. as influenced by salinity, temperature, and gibberellic acid. *Seed Science and Technology* **26**: 107–117.
- Kigel J. 1994.** Development and ecophysiology of amaranths. In: Paredes-López O, ed. *Amaranth: Biology, Chemistry, and Technology*. Boca Raton, London, New York: CRC Press, 40–64.
- Kigel J, Gibly A, Negbi M. 1979.** Seed germination in *Amaranthus retroflexus* L. as affected by the photoperiod and age during flower induction of the parent plants. *Journal of Experimental Botany* **30**: 997–1002.

- Kigel J, Ofir M, Koller D. 1977.** Control of the germination responses of *Amaranthus retroflexus* L. seeds by their parental photothermal environment. *Journal of Experimental Botany* **28**: 1125–1136.
- Kimball S, Angert AL, Huxman TE, Venable DL. 2010.** Contemporary climate change in the Sonoran Desert favors cold-adapted species. *Global Change Biology* **16**: 1555–1565.
- Kingsolver JG, Diamond SE, Buckley LB. 2013.** Heat stress and the fitness consequences of climate change for terrestrial ectotherms. *Functional Ecology* **27**: 1415–1423.
- Koornneef M, Bentsink L, Hilhorst H. 2002.** Seed dormancy and germination. *Current Opinion in Plant Biology* **5**: 33–36.
- Kruk BC. 1992.** Análisis funcional y cuantitativo de la emergencia de especies maleza en el cultivo de trigo. Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Kruk BC, Benech-Arnold RL. 1998.** Functional and quantitative analysis of seed thermal responses in prostrate knotweed (*Polygonum aviculare*) and common purslane (*Portulaca oleracea*). *Weed Science* **46**: 83–90.
- Kruk B, Insausti P, Razul A, Benech-Arnold R. 2006.** Light and thermal environments as modified by a wheat crop: effects on weed seed germination. *Journal of Applied Ecology* **43**: 227–236.
- Kucera B, Cohn MA, Leubner-Metzger G. 2005.** Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research* **15**: 281–307.
- Lacey EP, Smith S, Case AL. 1997.** Parental effects on seed mass: seed coat but not embryo/endosperm effects. *American Journal of Botany* **84**: 1617–1620.
- Leverett LD, Auge GA, Bali A, Donohue K. 2016.** Contrasting germination responses to vegetative canopies experienced in pre- vs. post-dispersal environments. *Annals of Botany* **118**: 1175–1186.
- Levine JM, McEachern AK, Cowan C. 2011.** Seasonal timing of first rain storms affects rare plant population dynamics. *Ecology* **92**: 2236–2247.
- Lindström LI, Hernández LF. 2015.** Developmental morphology and anatomy of the reproductive structures in sunflower (*Helianthus annuus*): a unified temporal scale. *Botany* **93**: 307–316.
- Macgregor DR, Kendall SL, Florance H, Fedi F, Moore K, Paszkiewicz K, Smirnoff N, Penfield S. 2015.** Seed production temperature regulation of primary dormancy occurs through control of seed coat phenylpropanoid metabolism. *New Phytologist* **205**: 642–652.
- Malavert C, Batlla D, Benech-Arnold RL. 2017.** Temperature-dependent regulation of induction into secondary dormancy of *Polygonum aviculare* L. seeds: A quantitative analysis. *Ecological Modelling* **352**: 128–138.
- Marin M, Blandino C, Laverack G, Toorop P, Powell AA. 2019.** Responses of *Primula vulgaris* to light quality in the maternal and germination environments. *Plant Biology* **21**: 439–448.
- Mccullough JM, Shropshire W. 1970.** Physiological predetermination of germination responses in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant and Cell Physiology* **11**: 139–148.
- Michel BE. 1983.** Evaluation of the water potentials of solutions of polyethylene glycol 8000 both in the absence and presence of other solutes. *Plant physiology* **72**: 66–70.
- Mousseau T, Fox C. 1998.** The adaptive significance of maternal effects. *Trends in Ecology & Evolution* **13**: 403–407.
- Munir J, Dorn LA, Donohue K, Schmitt J. 2001.** The effect of maternal photoperiod on seasonal dormancy in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *American Journal of*

Botany **88**: 1240–1249.

Murphy CE, Lemerle D. 2006. Continuous cropping systems and weed selection. *Euphytica* **148**: 61–73.

Neubauer BF. 1971. The development of the achene of *Polygonum pensylvanicum*: embryo, endosperm, and pericarp. *American Journal of Botany* **58**: 655–664.

Neve P, Vila-aiub M, Roux F. 2009. Evolutionary-thinking in agricultural weed management. *New Phytologist* **184**: 783–793.

Ni B, Bradford KJ. 1992. Quantitative models characterizing seed germination responses to abscisic acid and osmoticum. *Plant Physiology* **98**: 1057–1068.

Oerke EC. 2006. Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science*: 31–43.

Ooi MK, Auld TD, Denham AJ. 2009. Climate change and bet-hedging: interactions between increased soil temperatures and seed bank persistence. *Global Change Biology* **15**: 2375–2386.

Orozco-Segovia A, Sanchez-Coronado ME, Vazquez-Yanes C. 1993. Effect of maternal light environment on seed germination in *Piper auritum*. *Functional Ecology* **7**: 395–402.

Orozco-Segovia A, Brechú-Franco AE, Zambrano-Polanco L, Osuna Fernández R, Laguna Hernández G, Sánchez Coronado ME. 2000. Effects of maternal light environment on germination and morphological characteristics of *Sicyos deppei* seeds. *Weed Research* **40**: 495–506.

Penfield S. 2017. Seed dormancy and germination. *Current Biology* **27**: R874–R878.

Penfield S, MacGregor DR. 2017. Effects of environmental variation during seed production on seed dormancy and germination. *Journal of Experimental Botany* **68**: 819–825.

Penuelas J, Rutishauser T, Filella I. 2009. Phenology feedbacks on climate change. *Science* **324**: 887–888.

Pons TL. 1992. *Seed responses to light. Seeds: the ecology of regeneration in plant communities* (EM Fenner, Ed.). Wallingford: CAB International.

Pourrat Y, Jacques R. 1975. The influence of photoperiodic conditions received by the mother plant on morphological and physiological characteristics of *Chenopodium polyspermum* L. seeds. *Plant Science Letters* **4**: 273–279.

Probert RJ. 1992. *The role of temperature in germination ecophysiology. Seeds: the ecology of regeneration in plant communities* (M Fenner, Ed.). Wallingford: CAB International.

Radosevich SR, Holt JS, Ghera C. 1997. *Weed ecology: implications for management*. John Wiley & Sons.

Rattalino JI, Mayer LI, Otegui ME. 2014. Heat stress in temperate and tropical maize hybrids: Kernel growth, water relations and assimilate availability for grain filling. *Field Crops Research* **166**: 162–172.

Roach DA, Wulff RD. 1987. Maternal effects in plants. **18**: 209–235.

Sánchez RA, Eyherabide G, de Miguel L. 1981. The influence of irradiance and water deficit during fruit development on seed dormancy in *Datura ferox* L. *Weed Research* **21**: 127–132.

Sawhney R, Quick WA, Hsiao AI. 1985. The effect of temperature during parental vegetative growth on seed germination of wild oats (*Avena fatua* L.). *Annals of Botany* **55**: 25–28.

Schmitt J. 1997. Is photomorphogenic shade avoidance adaptive? Perspectives from population biology. *Plant, Cell & Environment* **20**: 826–830.

Schmitt J, Wulff RD. 1993. Light spectral quality, phytochrome and plant competition.

Trends in Ecology and Evolution **8**: 47–51.

Schonbeck MW, Egley GH. 1980. Redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) seed germination responses to afterripening, temperature, ethylene, and some other environmental factors. *Weed Science* **28**: 543–548.

Scopel AL, Ballaré CL, Sánchez RA. 1991. Induction of extreme light sensitivity in buried weed seeds and its role in the perception of soil cultivations. *Plant, Cell & Environment* **14**: 501–508.

Seo M, Nambara E, Choi G, Yamaguchi S. 2009. Interaction of light and hormone signals in germinating seeds. *Plant Molecular Biology* **69**: 463–472.

Simberloff D, Martin J, Genovesi P, Maris V, Wardle DA, Aronson J, Courchamp F, Galil B, Pascal M, Pys P. 2013. Impacts of biological invasions: what's what and the way forward. *Trends in Ecology & Evolution*, **28**: 58–66.

Smith H. 1973. Light quality and germination: ecological implications. *Seed ecology* **10**: 219–231.

Song J, Smart R, Wang H, Damberg B, Sparrow A, Qian MC. 2015. Effect of grape bunch sunlight exposure and UV radiation on phenolics and volatile composition of *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir wine. *Food chemistry* **173**: 424–431.

Spokas K, Forcella F. 2009. Software tools for weed seed germination modeling. *Weed Science* **57**: 216–227.

Springthorpe V, Penfield S. 2015. Flowering time and seed dormancy control use external coincidence to generate life history strategy. *eLife* **4**: e05557.

Steadman KJ, Ellery AJ, Chapman R, Moore A, Turner NC. 2004. Maturation temperature and rainfall influence seed dormancy characteristics of annual ryegrass (*Lolium rigidum*). *Australian Journal of Agricultural Research* **55**: 1047–1057.

Steckel LE, Main CL, Ellis AT, Mueller TC. 2008. Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) in Tennessee has low level glyphosate resistance. *Weed Technology* **22**: 119–123.

Thomas JF, Raper CD. 1975. Seed germinability as affected by the environmental temperature of the mother plant. *Tobacco Science* **19**: 98–100.

Thompson K, Grime J. 1983. A comparative study of germination responses to diurnally-fluctuating temperatures. *Journal of Applied Ecology* **20**: 141–156.

Thompson K, Grime JP, Mason G. 1977. Seed germination in response to diurnal fluctuations of temperature. *Nature* **267**: 147.

Totterdell S, Roberts EH. 1980. Characteristics of alternating temperatures which stimulate loss of dormancy in seeds of *Rumex obtusifolius* L. and *Rumex crispus* L. *Plant, Cell & Environment* **3**: 3–12.

Vayda K, Donohue K, Auge GA. 2018. Within- and trans-generational plasticity: seed germination responses to light quantity and quality. *AoB Plants* **10**: ply023.

Vegis A. 1964. Dormancy in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* **15**: 185–224.

Verdú M, Traveset A. 2005. Early emergence enhances plant fitness: a phylogenetically controlled meta-analysis. *Ecology* **86**: 1385–1394.

Vidovic M, Morina F, Milic S, Zechmann B, Albert A, Winkler JB, Veljovic S. 2015. Ultraviolet-B component of sunlight stimulates photosynthesis and flavonoid accumulation in variegated *Plectranthus coleoides* leaves depending on background light. *Plant, Cell & Environment* **38**: 968–979.

Vincent EM, Roberts EH. 1977. The interaction of light, nitrate and alternating temperature in promoting the germination of dormant seeds of common weed species. *Seed Science and Technology* **5**: 659–670.

- Vitta JI, Faccini DE, Nisensohn LA. 2000.** Control of *Amaranthus quitensis* in soybean crops in Argentina: an alternative to reduce herbicide use. *Crop Protection* **19**: 511–513.
- Vleeshouwers LM, Bouwmeester HJ. 2001.** A simulation model for seasonal changes in dormancy and germination of weed seeds. *Seed Science Research* **11**: 77–92.
- Walck JL, Hidayati SN, Dixon KW, Thompson K, Poschlod P. 2011.** Climate change and plant regeneration from seed. *Global Change Biology* **17**: 2145–2161.
- Washitani I. 1987.** A convenient screening-test system and a model for thermal germination responses of wild plant seeds: behavior of model and real seeds in the system. *Plant, Cell & Environment* **10**: 587–598.
- Weaver SE, McWilliams EL. 1980.** The biology of canadian weeds: *Amaranthus retroflexus* L., *A. powellii* S. Wats. and *A. hybridus* L. *Canadian Journal of Plant Science* **60**: 1215–1234.
- Westwood JH, Charudattan R, Duke SO, Fennimore SA, Marrone P, Slaughter DC, Swanton C, Zollinger R. 2018.** Weed management in 2050: perspectives on the future of weed science. *Weed Science* **66**: 275–285.
- Wiesner LE, Grabe DF. 1972.** Effect of temperature preconditioning and cultivar on ryegrass (*Lolium* sp.) seed dormancy. *Crop Science* **12**: 760–764.
- Willis CG, Baskin CC, Baskin JM, Auld JR, Venable DL, Cavender-Bares J, Donohue K, de Casas RR, Bradford K, Burghardt L, et al. 2014.** The evolution of seed dormancy: Environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. *New Phytologist* **203**: 300–309.
- Wolf SJ, McNeill J. 1986.** Synopsis and achene morphology of *Polygonum* section *Polygonum* (*Polygonaceae*) in Canada. *Rhodora* **88**: 457–479.
- Wolf JB, Wade MJ. 2009.** What are maternal effects (and what are they not)? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364**: 1107–1115.
- Yurtseva O V. 2001.** Ultrasculpture of achene surface in *Polygonum* section *Polygonum* (*Polygonaceae*) in Russia. *Nordic Journal of Botany* **21**: 513–528.
- Yurtseva O V., Yakovleva ND, Ivanova-Radkevich TI. 1999.** Heterocarpy in *Polygonum aviculare* L. and related species (*Polygonum* subsect. *Polygonum*). *Bulletin of Moscow Society of Naturalists. Biological Series* **104**: 13–20.
- Zhou S, Sekizaki H, Yang Z, Sawa S, Pan J. 2010.** Phenolics in the seed coat of wild soybean (*Glycine soja*) and their significance for seed hardness and seed germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**: 10972–10978.

ANEXO

Figuras y notas suplementarias al Capítulo 2

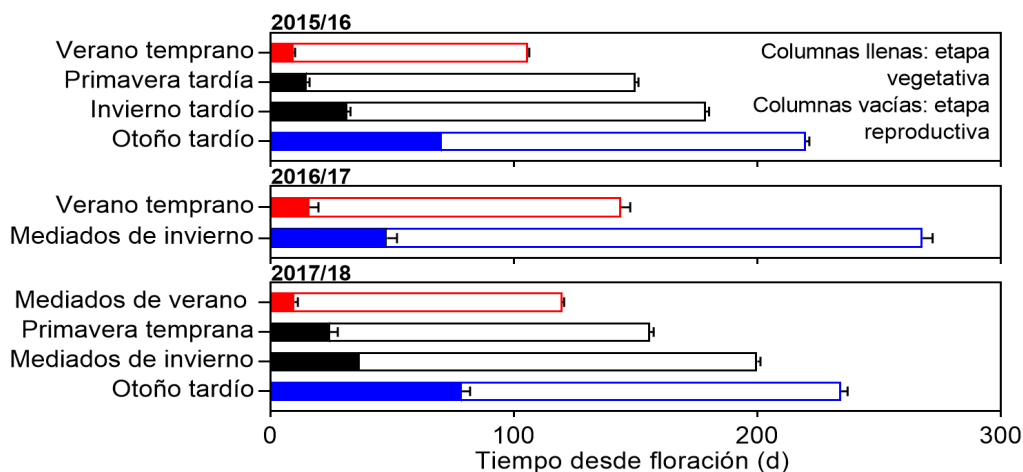


Figura S2. 1. Duración de las fases vegetativa y reproductiva expresada en días para las plantas de *P. aviculare* sembradas en diferentes fechas en 2015/16, 2016/17 y 2017/18. Fines de otoño (2015/16) y mediados de invierno (2016/17) refieren a plantas expuestas al fotoperíodo natural o extendido post-floración. Las barras horizontales representan el error estándar.

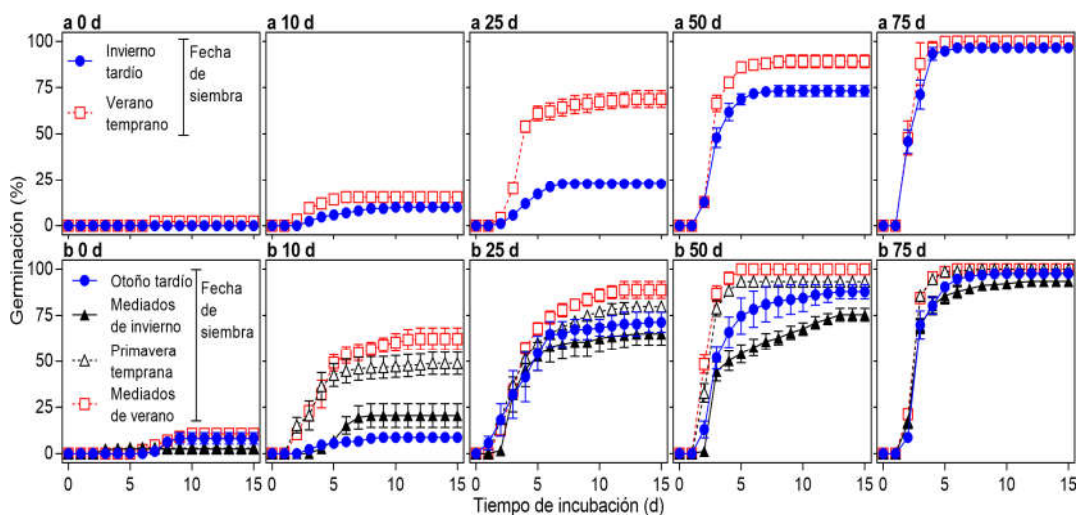


Figura S2. 2. Germinación acumulada para semillas de *P. aviculare* incubadas a 10/24 °C durante 15 d, luego de 0 (i.e. a cosecha), 10, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,8 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas en dos y cuatro fechas diferentes en (a) 2016/17 y (b) 2017/18, respectivamente. Los símbolos representan la media ($n = 4$) y las barras verticales, el error estándar.

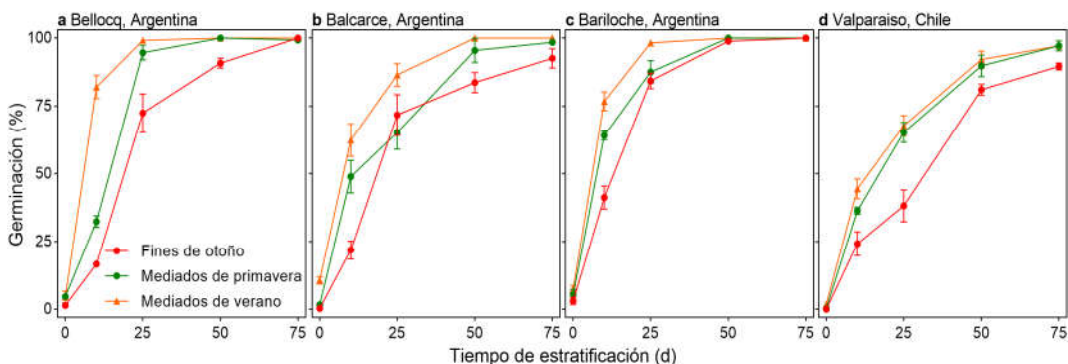


Figura S2. 3. Germinación final (%) para semillas de *P. aviculare* incubadas a 10/24 ° C durante 15 d, luego de 0 (i.e. a cosecha), 10, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,8 °C. Las semillas se obtuvieron plantas sembradas a fines de otoño, mediados de primavera, mediados de verano, 2017/18. Estas plantas se generaron utilizando semillas recolectadas en (a) Bellocq, (b) Balcarce, (c) Bariloche y (d) Valparaíso. Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

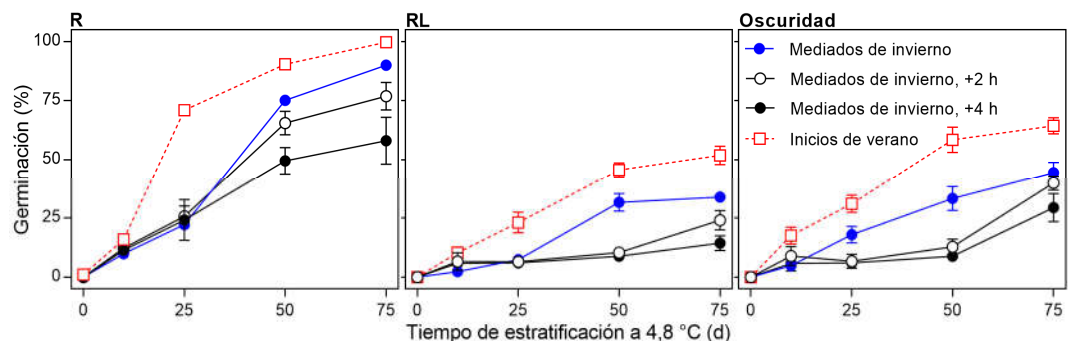


Figura S2. 4. Germinación final (%) para semillas de *P. aviculare* incubadas a (a) 10/24 y (b) 15 °C durante 15 d luego de 0, 10, 25, 50 y 75 d de estratificación a 4,8 °C y de ser expuestas a un pulso de 20 min: de luz R con una intensidad de $28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, luz RL con una intensidad de $32 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ u oscuridad constante. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a mediados de invierno y expuestas a fotoperíodo natural, plantas sembradas a inicios del verano y plantas sembradas a mediados de invierno pero expuestas a +2 h y +4 h (2016/17). Los símbolos representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar.

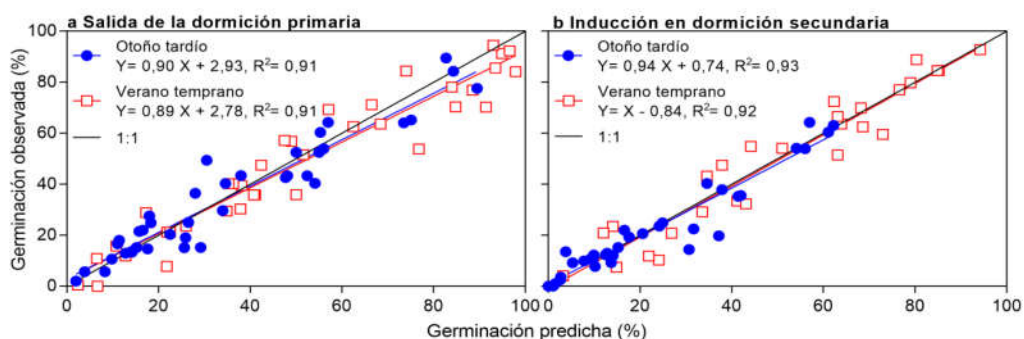


Figura S2. 5. Relación entre los datos de germinación observados y predichos para semillas de *P. aviculare* durante (a) la salida de la dormición para semillas estratificadas a 1,6, 4,8 y 9,8 °C e incubadas a 10, 15, 20 y 25 °C y (b) la inducción en dormición secundaria para semillas almacenadas a 19,8 °C y 23,25 °C e incubadas a 15, 20 y 25 °C. Las semillas se obtuvieron de las siembras de otoño y verano. Las ecuaciones de regresión y R^2 se indican dentro de cada panel. La línea continua representa la relación 1:1.

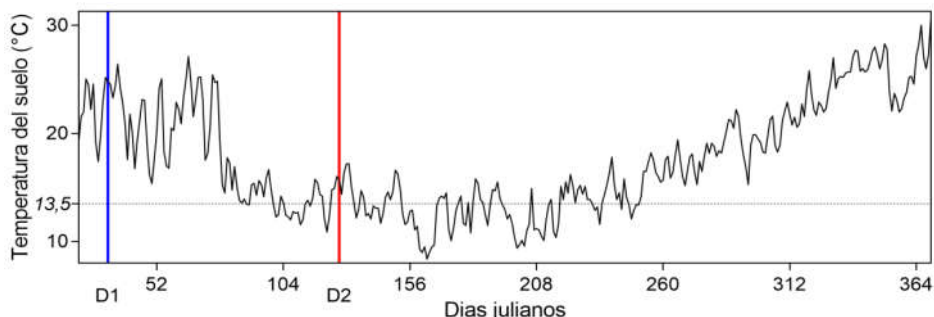


Figura S2. 6. Temperatura del suelo desde el 25 de enero. D1 refiere a la fecha en que se enterraron los semillas de *P. aviculare* obtenidas de plantas sembradas a fines de otoño y expuestas al fotoperíodo natural y +4 h (1 de febrero). D2, a la fecha en que se enterraron los semillas de *P. aviculare* de la siembra de inicios de verano y finales de otoño (8 de mayo).

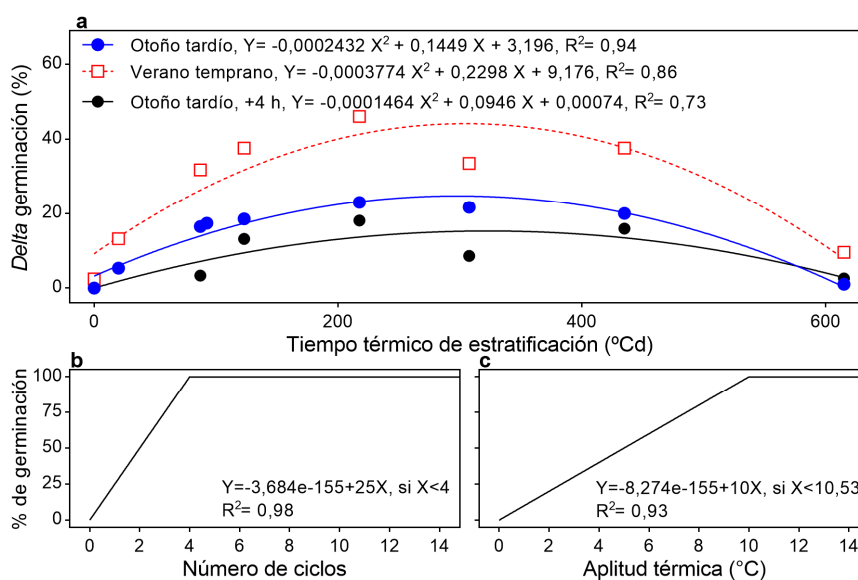


Figura S2. 7. (a) Diferencia de germinación (%) en función del TT para semillas de *P. aviculare* obtenidas de las siembras de fines de otoño (fotoperiodo natural y extendido +4 h) e inicios de verano. (b) Relación entre el % de Delta germinación y el Número de ciclos en base a datos de Batlla et al. (2003). (c) Delta germinación (%) en función de la amplitud térmica a partir de datos de Baskin y Baskin (1990), Khan y Ungar (1998), Thompson y Grime (1983), Cavers y Harper (1966) y Totterdell y Roberts (1980). Las ecuaciones resultantes y los R^2 se indican en cada panel.

Nota asociada a la figura S2.7. Las temperaturas en el campo fluctúan y esta fluctuación influye sobre la dormición de las semillas de *P. aviculare*. Por ello se modeló la respuesta de las semillas a este factor en función del TT de estratificación a 1,6, 4,8 y 9,8 °C, cuantificando la diferencia (Delta germinación, Dg) entre la germinación alcanzada a 10/24 °C con respecto a la registrada a 15 °C (Fig. 2.4). Las respuestas parabólicas obtenidas (Fig. S2.7a) representan la fracción adicional de la población capaz de germinar a 10/24 °C por encima de la germinación a 15 °C. A su vez, se estimó el efecto de dos variables “moduladoras” de esta respuesta: número de ciclos (i.e. días a 10/24 °C) y amplitud térmica. En el primer caso, se utilizaron datos reportados por Batlla et al. (2003) para *P. aviculare*. El efecto de la amplitud se analizó con datos extraídos de diferentes autores para *P. aviculare* y otras especies. Germinación final= Germinación simulada con modelos para temperaturas constantes * Dg (calculado en función del TT de estratificación acumulado desde el entierro hasta la fecha de extracción de las semillas en cada prueba) * Factor de N° de ciclos * Factor de amplitud térmica.

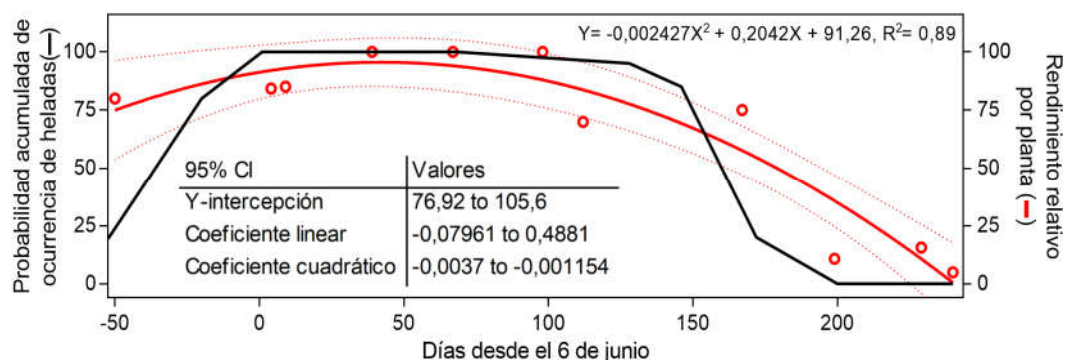


Figura S2. 8. Probabilidad acumulada de ocurrencia de heladas en Balcarce, Argentina (CIAg - Centro de Información Agroclimática) y producción de semillas relativa por planta de *P. aviculare* utilizando datos de experimentos de campo \pm IC (95%) en función del tiempo (d) desde el 6 de junio.

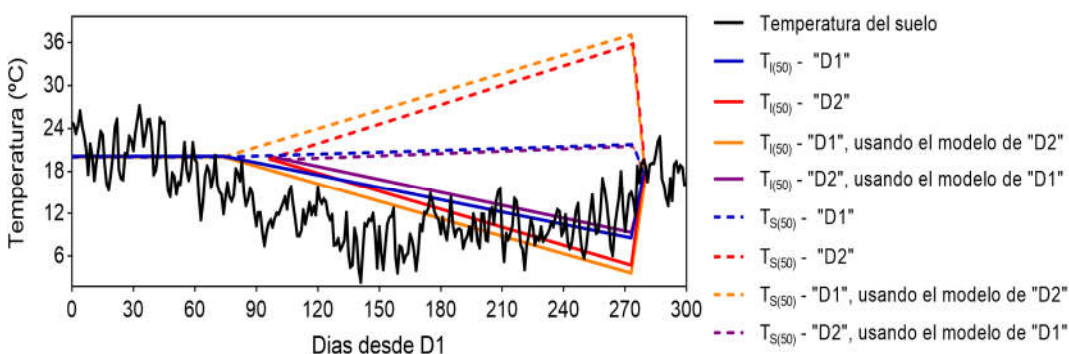


Figura S2. 9. Temperatura del suelo a 5 cm de profundidad simulada (STM2; Spokas y Forcella 2009) para Balcarce (37° 45' S, 58° 18' O), Buenos Aires, Argentina, y límites del rango térmico permisivo para la germinación de semillas de *P. aviculare* en función del tiempo (d) desde la dispersión en 'D1'.

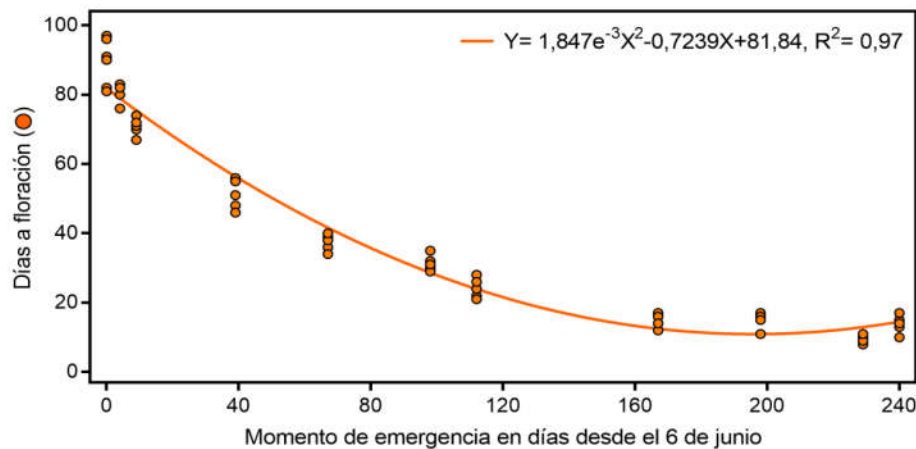


Figura S2. 10. Tiempo hasta floración para plantas de *P. aviculare* en función del tiempo de emergencia de esas plantas (días desde el 6 de junio), según los datos de experimentos a campo.

Cuadro S2. 1. Parámetros térmicos poblacionales estimados para semillas de *P. aviculare* obtenidas de plantas sembradas a fines de otoño (expuestas a fotoperíodo natural y extendido +4 h) e inicios de verano (2015/16). a- Para semillas estratificadas a 1,6/4,8/9,8 °C (indicadas en este orden). b- Para semillas almacenadas a 19,8/23,25 °C (indicadas en este orden).

a. Parámetros térmicos poblacionales para la salida de la dormición primaria							
	Tiempo (d)	T _{l(50)} (°C)	θ _{Tl} (°C)	T _{s(50)} (°C)	θ _{Ts} (°C)	RCME	R ²
Otoño tardío	0	-	-	-	-	-	-
	10	18,6/18,2/-	7,4/4,8/-	19,28/18,8/-	7,5/6,4/-	7,76/6,7/-	0,97/0,75/-
	25	13,5/17,4/17,8	6,5/8,6/6,7	20,7/18,8/19,1	4,3/5,7/6,7	16,1/12,1/19,9	0,91/0,66/0,65
	50	9,5/11,9/17,0	0,6/7,9/7,0	21,2/21,0/19,5	9,1/6,5/5,2	13,1/9,8/10,1	0,97/0,94/0,95
Inicios de verano	0	-	-	-	-	-	-
	10	15,8/17,5/-	7,0/6,1/-	22,3/22,1/-	7,0/5,4/-	13,8/6,7/-	0,93/0,96/-
	25	9,7/14,5/18,07	6,9/8,3/4,7	26,5/25,1/18,9	2,9/4,4/8,6	23,1/11,3/2,4	0,93/0,97/0,80
	50	4,8/9,7/17,2	2,5/7,2/5,8	35,7/31,2/25,3	14,6/4,7/5,6	18,0/26,5/20,1	0,98/0,88/0,69
Otoño tardío +4 h	0	-	-	-	-	-	-
	10	17,5/17,4/-	5,7/0,7/-	17,6/17,4/-	1,3/1,2/-	4,6/3,9/-	0,55/0,60/-
	25	17,0/16,6/18,2	6,9/5,9/5,4	17,6/17,9/19,5	6,0/3,3/0,5	16,5/6,2/18,5	0,70/0,70/0,75
	50	14,9/14,2/17,8	7,1/7,1/8,4	20,0/21,9/20,6	4,7/9,2/4,1	19,0/15,5/15,9	0,77/0,78/0,81
b. Parámetros térmicos poblacionales para la inducción en dormición secundaria							
	Tiempo (d)	T _{l(50)} (°C)	θ _{Tl} (°C)	T _{s(50)} (°C)	θ _{Ts} (°C)	RCME	R ²
Otoño tardío	0	13,3/13,3	3,7/3,7	21,9/21,9	8,6/8,6	10,9	0,99
	1	13,5/15,1	2,9/1,1	21,5/20,5	4,9/5,4	5,8/19,6	0,99/0,99
	3	15,3/15,3	0,4/0,6	18,6/18,9	6,8/4,6	4,7/23,3	0,95/0,99
	6	16,3/16,6	1,3/2,1	18,1/17,7	3,8/5,1	12,9/18,2	0,64/0,92
	9	16,4/16,5	0,6/0,8	17,8/17,2	1,9/2,1	6,9/5,7	0,66/0,65
	15	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-
Inicios de verano	0	9,9/9,9	5,6/5,6	31,1/31,1	3,1/3,1	18,6	0,99
	1	10,4/11,8	5,1/6,0	28,3/27,1	6,2/6,1	16,9/23,2	0,99/0,99
	3	14,4/12,9	6,5/4,6	28,4/26,1	8,0/10,6	21,3/21,5	0,99/0,95
	6	17,2/14,6	5,1/7,0	18,9/21,6	9,1/10,6	10,4/16,2	0,92/0,93
	9	17,3/17,3	3,9/5,1	18,6/17,5	5,1/5,6	13,2/13,8	0,78/0,81
	15	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-

Los parámetros fueron obtenidos mediante la simulación de las curvas de germinación generadas experimentalmente a 10, 15, 20 y 25 °C (a) y 15, 20 y 25 °C (b). Las simulaciones fueron realizadas utilizando las ecuaciones descritas en el modelo de germinación (Ecuación 2.1). Un guión indica que el parámetro no pudo ser estimado debido a la baja germinación alcanzada en esa prueba.

Figuras y notas suplementarias al Capítulo 3

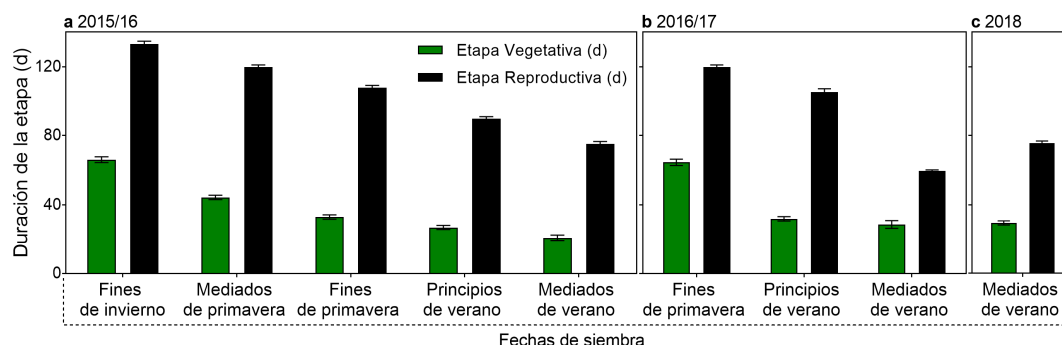


Figura S3. 1. Duración de las etapas vegetativa (en verde) y reproductiva (en negro) para las distintas fechas de siembra realizadas entre 2015 y 2018. Las columnas representan la media ($n=4$) y las barras verticales muestran el error estándar.

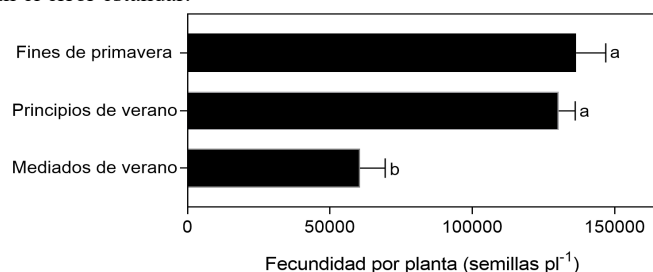


Figura S3. 2. Producción de semillas por plantas para cada fecha de siembra de *A. hybridus* (2016/17). Las columnas representan la media ($n=4$) y las barras horizontales, el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p<0,05$) según la prueba de comparación de Tukey (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

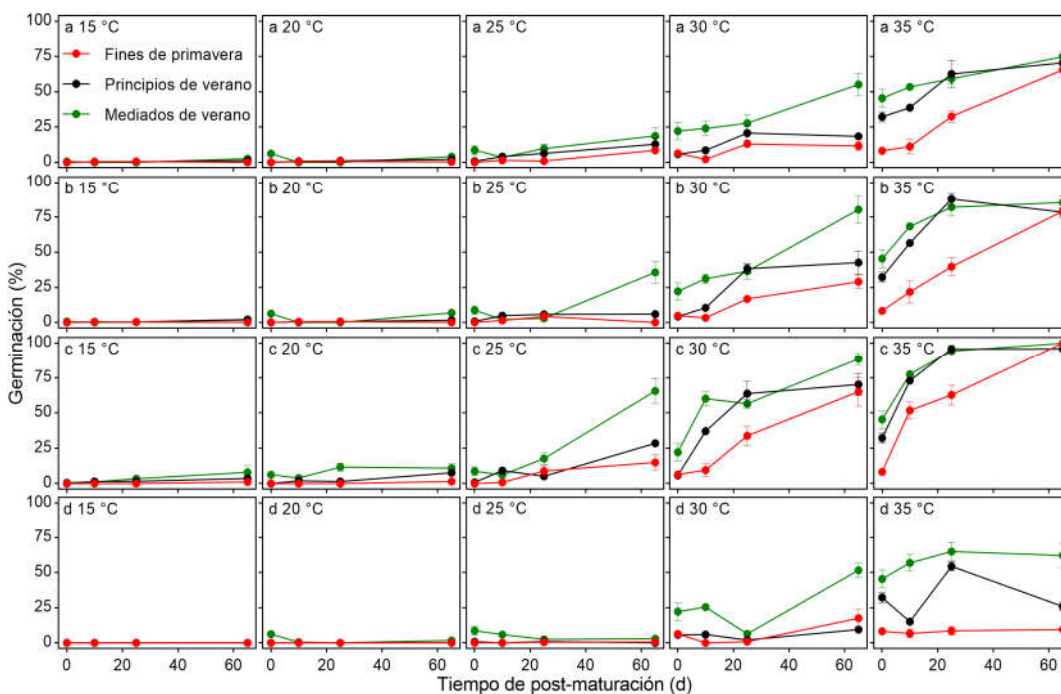


Figura S3. 3. Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* luego de 0, 10, 25 y 65 d de estratificación a 4,8 (a), 9,6 (b) y 15,3 °C (c) y almacenaje a 5 °C (d). Las temperaturas de incubación se indican en cada panel. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de primavera, inicios y mediados de verano (2016/17). Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar.

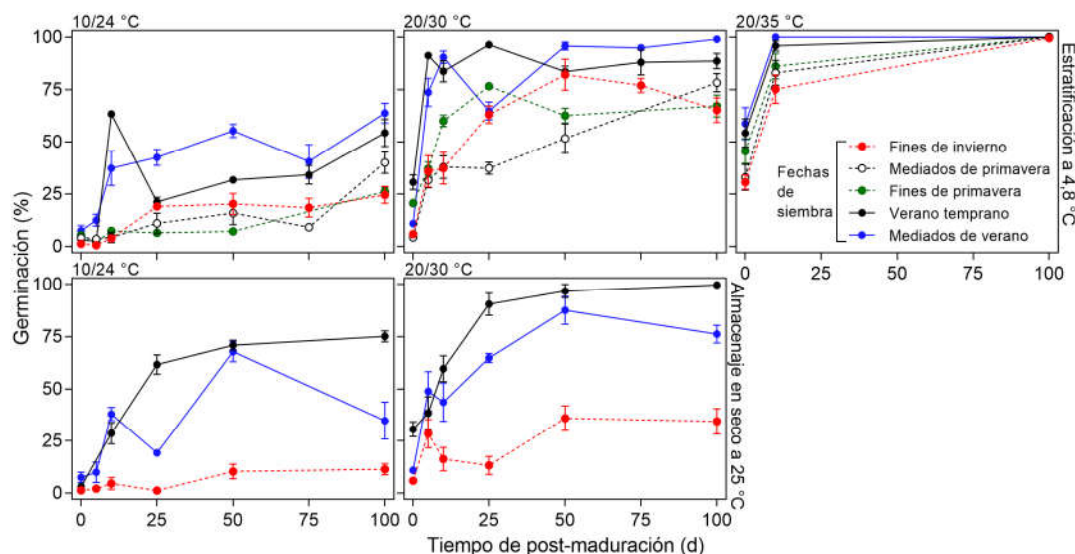


Figura S3. 4. Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* luego de 0, 5, 10, 25, 50, 75 y 100 d de estratificación a 4,8 °C (paneles superiores) y de almacenaje en seco a 25 °C (paneles inferiores). Las temperaturas de incubación se indican sobre cada panel (12/12 h). Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de invierno, mediados de primavera, fines de primavera, inicios y mediados de verano (2015/16). Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar.

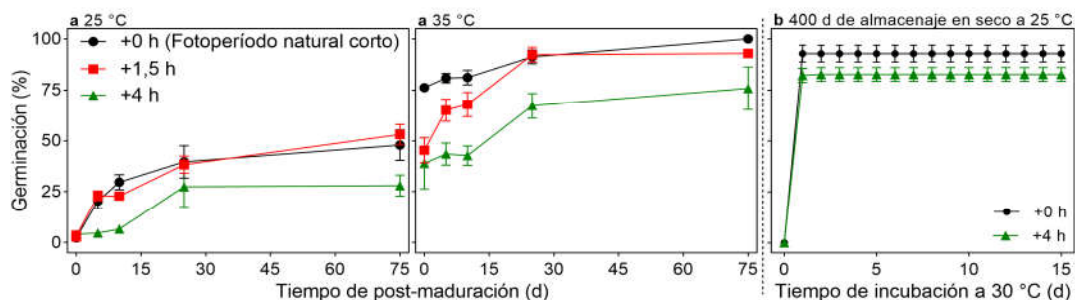


Figura S3. 5. (a) Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* a los 0, 5, 10, 25 y 75 d de almacenaje en seco a 25 °C. Las temperaturas de incubación se indican sobre cada panel. (b) Germinación acumulada (%) de semillas de *A. hybridus* incubadas a 30 °C luego de 400 d de almacenaje a 25 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a mediados de verano, expuestas a fotoperiodo natural (+0 h) o extendido +4 h (2018). Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar.

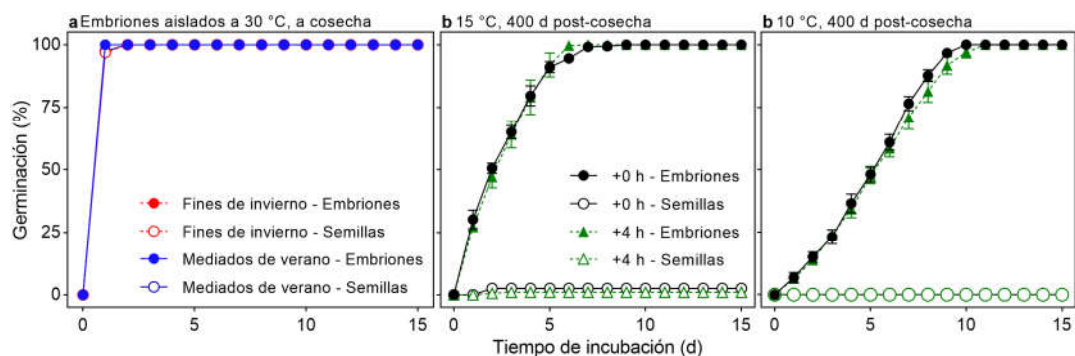


Figura S3. 6. (a) Germinación acumulada (%) de embriones aislados de *A. hybridus* incubados a 30 °C a cosecha. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a fines de invierno y mediados de verano (2015/16). (b) Germinación acumulada (%) de semillas intactas y perforadas de *A. hybridus* incubadas a 10 °C a los 0 y 400 d de almacenaje en seco a 25 °C. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a mediados de verano, expuestas a fotoperiodo natural (+0 h) o extendido +4 h (2018). Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar.

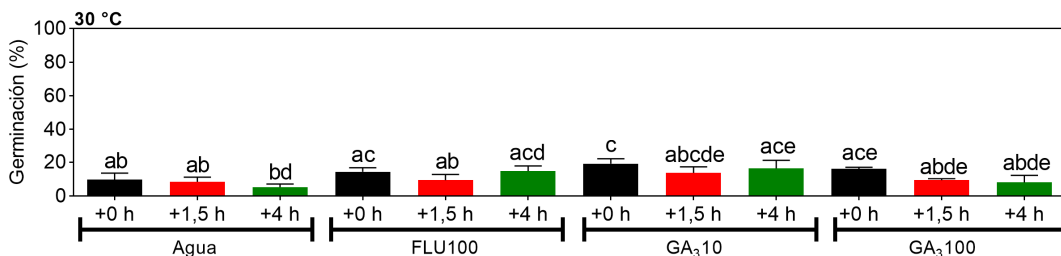


Figura S3. 7. Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* a cosecha, incubadas a 30 °C durante 15 d en agua destilada, fluridone 100 μ M, GA₃ 10 μ M y GA₃ 100 μ M. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a mediados de verano y que fueron expuestas a fotoperíodo natural corto (+0 h) o a fotoperíodo extendido +1,5 y +4 h (2018). Las columnas representan la media (n= 4) y las barras verticales muestran el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias (p<0,05) según la prueba de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

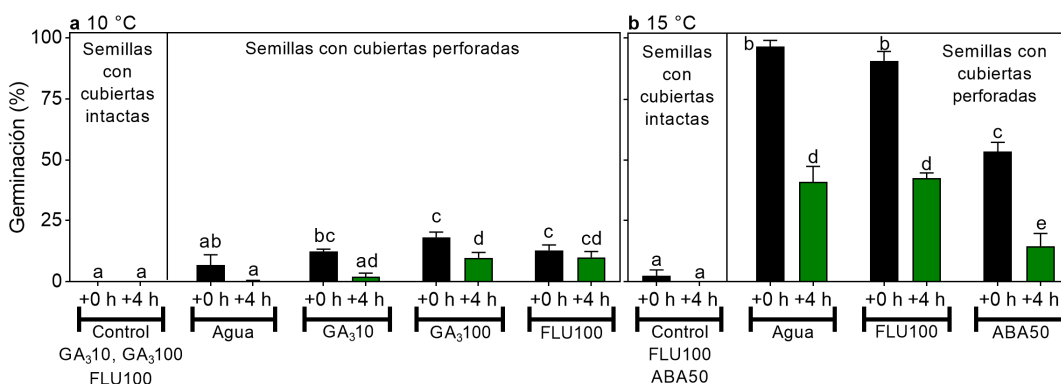


Figura S3. 8. Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* con cubiertas intactas o perforadas a los 75 d de estratificación a 4,8 °C, incubadas a 10 o 15 °C durante 15 d en agua destilada, fluridone 100 μ M, GA₃ 10 μ M y GA₃ 100 μ M. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a mediados de verano, expuestas a fotoperíodo natural (+0 h) o extendido +4 h (2018). Las columnas representan la media (n= 4) y las barras verticales, el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias (p<0,05) según la prueba de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

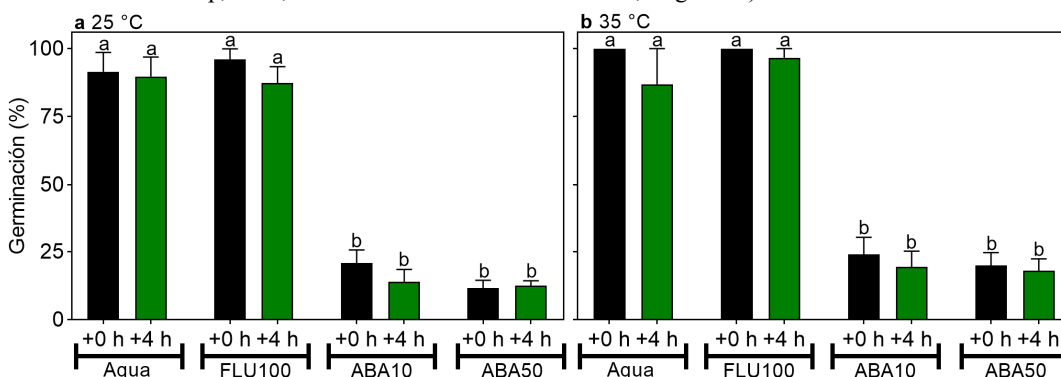
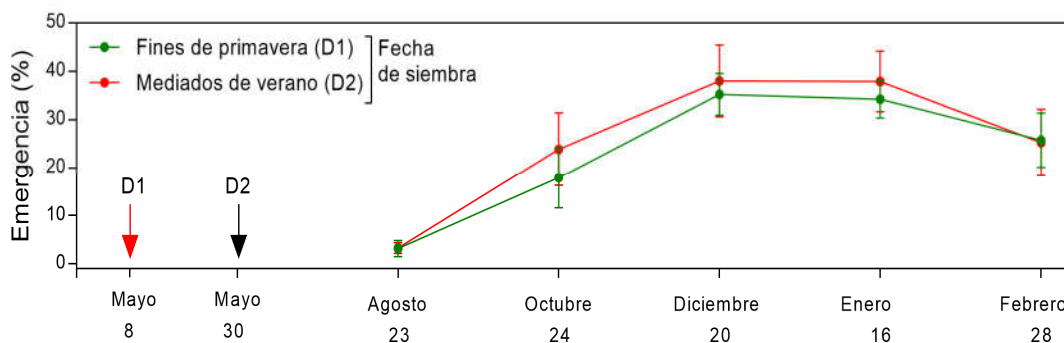
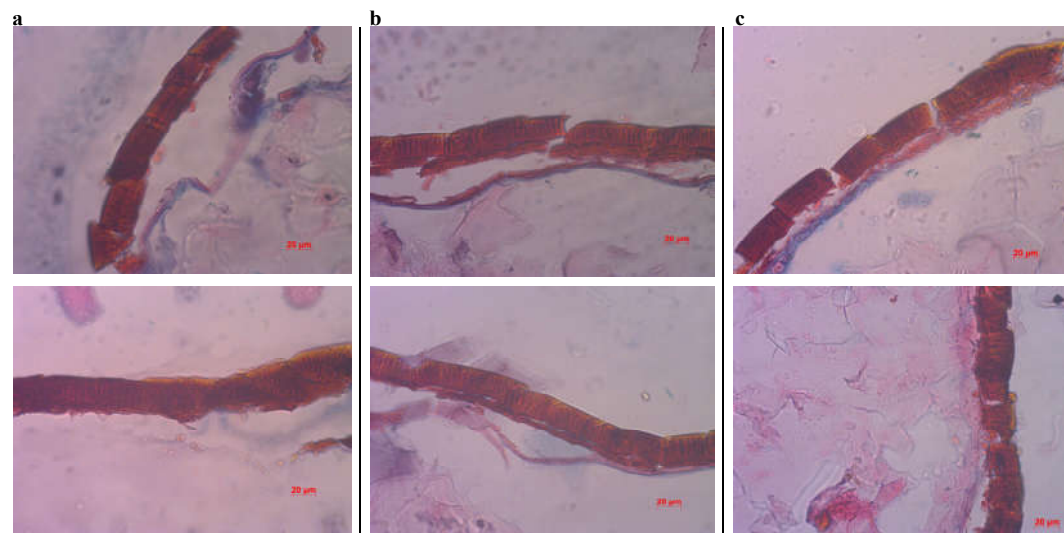
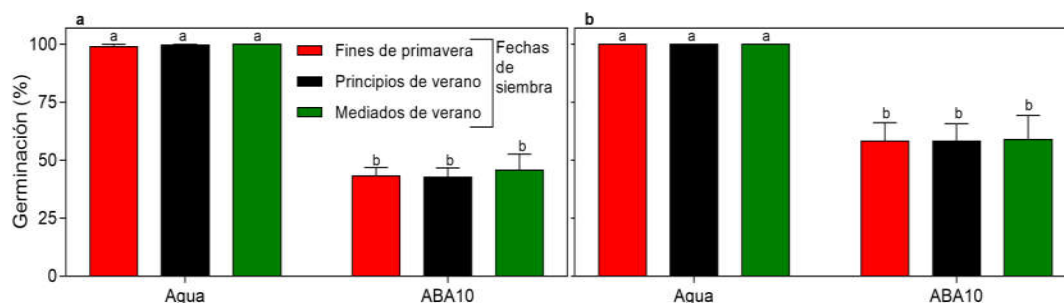


Figura S3. 9. Germinación final (%) de semillas de *A. hybridus* con cubiertas perforadas a los 25 d de estratificación a 4,8 °C, incubadas a (a) 25 y (b) 35 °C durante 15 d en agua destilada, fluridone 100 μ M, fluridone 100 μ M+ABA 10 μ M y fluridone 100 μ M+ABA 50 μ M. Las semillas se obtuvieron de plantas sembradas a mediados de verano, que fueron expuestas a fotoperíodo natural (+0 h) o extendido +4 h (2018). Las columnas representan la media (n= 4) y las barras horizontales, el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias (p<0,05) según la prueba de comparación de Tukey realizada con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).



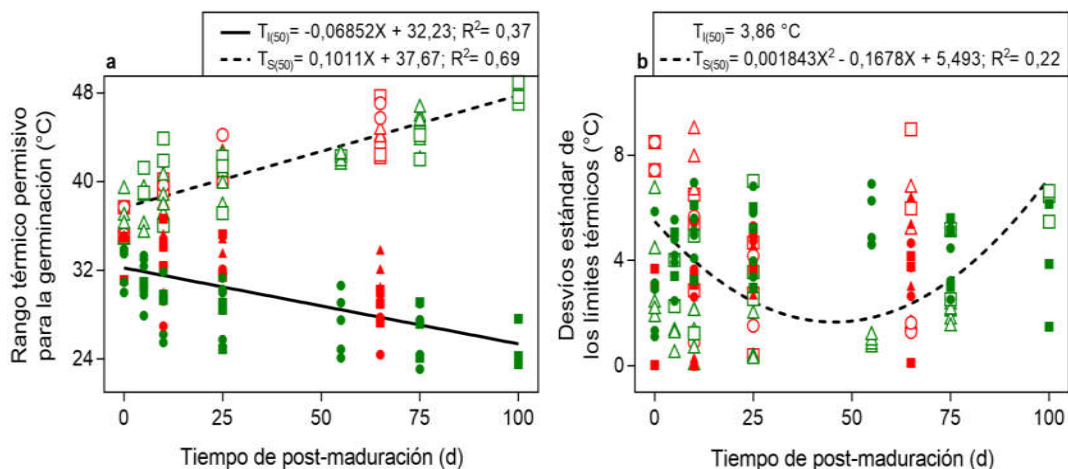


Figura S3. 13. Valores estimados de $T_{l(50)}$ y $T_{s(50)}$ del rango térmico permisible para la germinación (a) y desvíos estándar de los límites (b) para semillas de *A. hybridus* estratificadas a 4,8 °C (▲), 9,6 °C (■) y 15,3 °C (●) en función del tiempo de post-maduración. Símbolos y líneas llenos corresponden a la T_l . Símbolos vacíos y líneas a rayas corresponden a la T_s . Las semillas fueron cosechadas de plantas sembradas en 2015/16 y 2016/17. Las ecuaciones que describen la relación entre los parámetros y el tiempo y los R^2 se indican en cada panel. Los análisis de regresión lineal y pruebas de pendiente (con un nivel de significancia del 5%) se realizaron con el software InfoStat (versión InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

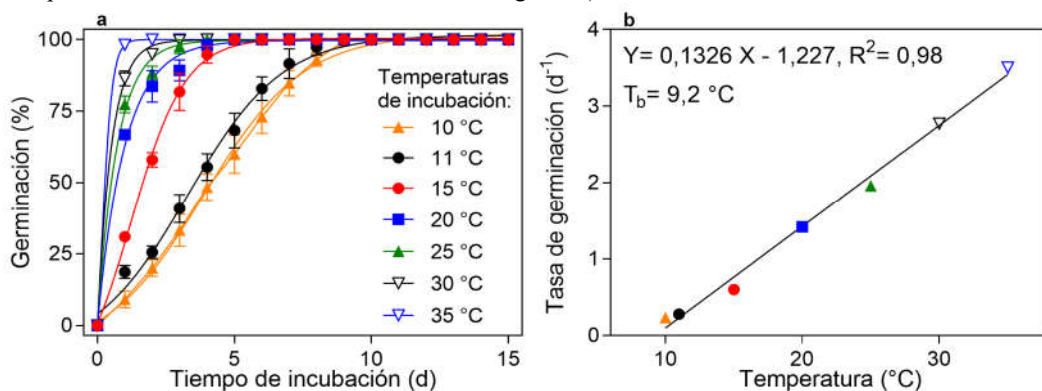


Figura S3. 14. (a) Funciones ajustadas a la germinación acumulada de semillas de *A. hybridus* con cubiertas perforadas en función del tiempo de incubación a 10, 11, 15, 20, 25, 30 y 35 °C luego de transcurrir 100 d de almacenaje en seco a 25 °C. Los símbolos representan la media ($n=4$) y las barras verticales, el error estándar. (b) Tasa de germinación para el 50% de la población del semillas de *A. hybridus* (d^{-1}) en función de la temperatura de incubación, utilizando la inversa de los parámetros estimados en (a).

Cuadro S3. 1. Valores de variables ambientales (\pm DE) registradas durante el ciclo total, etapas vegetativa y reproductiva para plantas sembradas en diferentes fechas (2016/17) o expuestas a diferentes condiciones de fotoperíodo (natural corto, o extendido +1.5 h y +4 h) a partir del inicio de la etapa reproductiva hasta la cosecha final de las semillas (2018).

	Fecha de siembra	Período/Etapa	Temperatura media diaria (°C)	Temperatura mínima media diaria (°C)	Temperatura máxima media diaria (°C)	Fotoperíodo medio (h)	Radiación media diaria (MJ m ⁻²)
2016/17	Fines de primavera	Total	22,2(\pm 3,8)	17,2(\pm 4,3)	27,5(\pm 4,1)	14	18,9(\pm 7,6)
		Vegetativo	23,1(\pm 3,3)	17,4(\pm 4,2)	28,7(\pm 3,8)	15,2	23,6(\pm 7,1)
		Reproductivo	21,8(\pm 3,9)	17,1(\pm 4,3)	26,9(\pm 4,2)	13,4	16,5(\pm 6,7)
	Inicios de verano	Total	21,1(\pm 4,4)	16,5(\pm 4,6)	26,1(\pm 4,9)	13,4	15,7(\pm 7,1)
		Vegetativo	24,3(\pm 2,9)	19,4(\pm 3,4)	29,4(\pm 3,1)	14,9	21,4(\pm 6,4)
		Reproductivo	20,0(\pm 4,3)	15,5(\pm 4,5)	24,9(\pm 4,7)	12,6	13,7(\pm 6,2)
	Mediados de verano	Total	19,2(\pm 4,4)	14,8(\pm 4,5)	24,0(\pm 5,1)	12,3	12,9(\pm 6,1)
		Vegetativo	24,3(\pm 3,7)	19,1(\pm 4,2)	29,8(\pm 4,0)	13,6	18,6(\pm 5,0)
		Reproductivo	17,7(\pm 3,4)	13,5(\pm 3,8)	22,4(\pm 4,1)	11,9	11,4(\pm 5,5)
2018	Mediados de verano	Total	20,3(\pm 4,3)	15,6(\pm 4,3)	25,3(\pm 5,2)	12,9	12,1(\pm 7,6)
		Vegetativo	24,5(\pm 3,1)	19,3(\pm 3,5)	29,9(\pm 3,4)	14,2	19,7(\pm 5,2)
		Reproductivo	19,6(\pm 3,3)	14,8(\pm 3,5)	24,5(\pm 4,3)	12,4	11,8(\pm 6,2)

Plantas sembradas en 2018 fueron expuestas a distintos fotoperíodos desde el inicio de la etapa reproductiva hasta la cosecha. La aplicación de estos tratamientos no modificó la fenología de las plantas. Por lo tanto, la única variable que varió entre tratamientos fue el fotoperíodo (resaltado en negrita), mientras las demás variables fueron iguales para todas las plantas.

Cuadro S3. 2. Valores de correlación y estadístico P entre el tiempo de estratificación requerido para la germinación del 50% de las semillas y el valor medio de los factores ambientales medidos durante el ciclo de vida de las plantas y las etapas vegetativa y reproductiva.

Variable ambiental-Etapa	R	P
Fotoperíodo-Total	-0,19	0,0646
Temperatura-Total	-0,255	0,1736
RFA-Total	-0,048	0,6471
Fotoperíodo-Vegetativa	-0,07	0,5171
Temperatura-Vegetativa	-0,227	0,2639
RFA-Vegetativa	-0,01	0,9271
Fotoperíodo-Reproductiva	0,85	0,003
Temperatura-Reproductiva	-0,35	0,1536
RFA-Reproductiva	-0,16	0,432

Para este análisis se utilizaron los datos de todas las fechas de siembra (InfoStat 2017. InfoStat Group, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

Cuadro S3. 3. Parámetros térmicos poblacionales estimados para semillas de *A. hybridus* estratificadas a 4,8 °C o almacenadas a 25 °C (indicadas en este orden) obtenidos mediante la simulación de las curvas de germinación generadas experimentalmente a 10, 15, 20, 25, 30 y 35 °C. Las simulaciones fueron realizadas utilizando la Ecuación 3.1. Un guión indica que el parámetro no pudo ser estimado. En gris: ecuaciones de regresión correspondientes a la Fig. 3.9.

Parámetros térmicos poblacionales para semillas estratificadas a 4,8 °C/almacenadas en seco a 25 °C

	$T_{i(50)}$ (°C)	θ_{Ti} (°C)	$T_{s(50)}$ (°C)	θ_{Ts} (°C)	RCME	R^2
Fines de invierno	0 d 33,752/33,752	3,35/3,35	34,821/34,824	3,96/3,96	2,1/2,1	0,99/0,99
	5 d 33,948/33,781	3,24/4,65	36,553/34,878	1,21/1,93	2,9/5,3	0,99/0,99
	10 d 31,868/33,531	6,96/4,51	36,099/36,599	0,81/0,98	3,8/3,8	0,99/0,99
	25 d 31,326/32,492	6,82/3,89	41,060/37,909	0,70/1,78	5,4/5,3	0,99/0,99
	55 d 30,524/-	6,91/-	41,698/-	0,66/-	5,8/-	0,99/-
	75 d 28,798/30,686	5,25/1,96	41,918/41,9365	0,85/3,65	6,1/6,5	0,99/0,99
	$Y=-0,060X+33,5$ (0,9) $Y=-0,043X+33,9$ (0,9)	$Y=-0,024X2+0,203X+3,5$ (0,7) $Y=-0,001X2+0,030X+3,9$ (0,8)	$Y=0,094X+36,0$ (0,8) $Y=0,094X+35,1$ (0,9)	$Y=0,001X2-0,119X+2,7$ (0,6) $Y=0,002X2-0,118X+3,0$ (0,6)		
Mediados de primavera	0 d 33,852/33,852	34,982/34,982	1,78/1,78	5,75/5,75	1,2/1,2	0,99/0,99
	5 d 33,700/33,794	36,245/36,676	5,02/5,76	1,31/0,54	3,9/5,9	0,99/0,99
	10 d 29,420/-	37,229/-	5,60/-	2,18/-	3,3/-	0,99/0,99
	25 d 30,024/29,835	41,681/38,850	5,81/6,97	0,44/0,63	5,4/4,9	0,99/0,99
	55 d 27,512/-	42,283/-	4,60/-	0,89/-	4,8/-	0,99/-
	75 d 27,434/25,597	43,902/41,615	3,23/5,23	1,84/3,49	5,3/7,3	0,99/0,99
	$Y=-0,081X+32,6$ (0,7) $Y=-0,086X+35,5$ (0,9)	$Y=-0,002X2+0,160X+3,3$ (0,6) $Y=-0,003X2+0,251X+2,9$ (0,7)	$Y=0,113X+36,2$ (0,9) $Y=0,112X+34,7$ (0,9)	$Y=0,003X2-0,252X+4,1$ (0,7) $Y=0,003X2-0,239X+4,0$ (0,6)		
Fines de primavera	0 d 32,924/3,924	37,113/37,113	3,87/3,87	3,21/3,21	4,9/4,9	0,99/0,99
	5 d 32,394/33,310	38,902/38,917	4,81/5,35	1,42/0,55	6,1/5,2	0,98/0,99
	10 d 29,601/-	38,902/-	4,97/-	0,75/-	9,2/-	0,99/-
	25 d 30,286/38,495	38,049/38,495	3,98/8,39	0,62/0,26	9,3/4,6	0,98/0,99
	55 d 28,679/26,781	42,010/41,981	4,87/4,71	1,25/0,45	7,1/8,8	0,99/0,99
	75 d 27,393/26,033	46,049/45,679	2,48/4,79	0,97/1,42	4,9/7,2	0,99/0,99
	$Y=-0,064X+32,0$ (0,8) $Y=-0,106X+33,8$ (0,9)	$Y=-0,001X2+0,053X+4,2$ (0,6) $Y=-0,002X2+0,147X+4,5$ (0,5)	$Y=0,102X+37,3$ (0,9) $Y=0,101X+37,2$ (0,9)	$Y=0,001X2-0,058X+1,8$ (0,6) $Y=0,001X2-0,093X+1,8$ (0,7)		
Inicios de verano	0 d 30,003/30,003	39,505/39,505	5,86/5,86	6,79/6,79	3,2/3,2	0,99/0,99
	5 d 29,792/28,979	39,584/38,567	3,93/6,52	2,35/9,43	18,6/4,2	0,97/0,99
	10 d 26,235/24,591	40,729/40,245	5,13/7,45	2,16/1,21	8,7/3,2	0,99/0,99
	25 d 25,952/20,770	42,630/46,266	5,21/5,79	0,34/1,04	5,9/7,9	0,99/0,99
	55 d 24,406/20,988	42,584/47,598	4,97/4,35	1,04/1,04	12,1/11	0,92/0,99
	75 d 23,744/20,578	49,651/49,980	4,31/4,99	0,88/1,99	8,5/6,7	0,99/0,99
	$Y=-0,077X+28,8$ (0,8) $Y=-0,115X+27,5$ (0,7)	$Y=-0,002X2+0,008X+5,0$ (0,4) $Y=-0,0001X2-0,39X+6,7$ (0,7)	$Y=0,113X+39,2$ (0,8) $Y=0,145X+39,7$ (0,9)	$Y=0,002X2-0,228X+4,9$ (0,6) $Y=0,003X2-0,331X+7,4$ (0,6)		
Mediados de verano	0 d 30,149/30,149	36,371/36,371	0,18/0,18	4,51/4,51	6,5/6,5	0,99/0,99
	5 d 27,917/27,927	38,937/32,179	4,19/5,64	1,33/3,45	11/12,1	0,99/0,98
	10 d 25,299/27,343	38,147/38,018	4,05/5,94	1,49/1,87	5,0/4,2	0,99/0,99
	25 d 24,783/25,730	39,980/36,269	3,68/7,46	0,36/2,24	6,2/9,1	0,99/0,99
	55 d 24,411/21,663	42,650/42,219	4,63/4,70	1,25/0,99	15,1/8,2	0,91/0,99
	75 d 22,862/21,735	46,829/47,981	4,79/4,22	1,58/1,97	8,6/8,8	0,99/0,99
	$Y=-0,073X+27,8$ (0,7) $Y=-0,109X+28,8$ (0,9)	$Y=-0,001X2+0,112X+2,0$ (0,5) $Y=-0,003X2-0,24X+2,7$ (0,5)	$Y=0,120X+37,1$ (0,9) $Y=0,167X+34,1$ (0,8)	$Y=0,002X2-0,145X+3,2$ (0,6) $Y=0,001X2-0,123X+4,0$ (0,8)		

Figuras y notas suplementarias al Capítulo 4

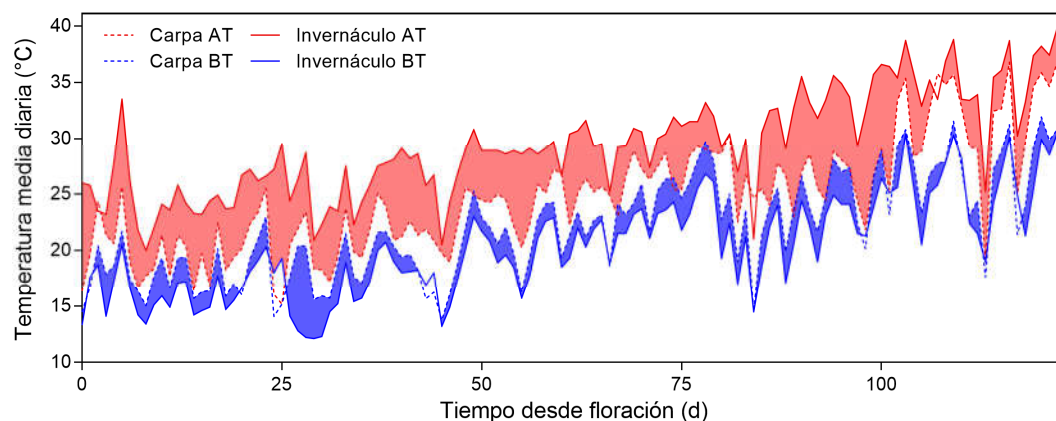


Figura S4. 1. Temperatura media diaria las carpas e invernáculos a alta (AT) y baja (BT) temperatura registrada durante las etapas de desarrollo y maduración de las semillas de *P. aviculare* en la planta madre. El área sombreada en rojo muestra la variación en la temperatura media alcanzada entre Carpa AT (límite inferior) e Invernáculo AT (límite superior). El área sombreada en azul muestra la variación en la temperatura media alcanzada entre Carpa BT (límite superior) e Invernáculo BT (límite inferior).

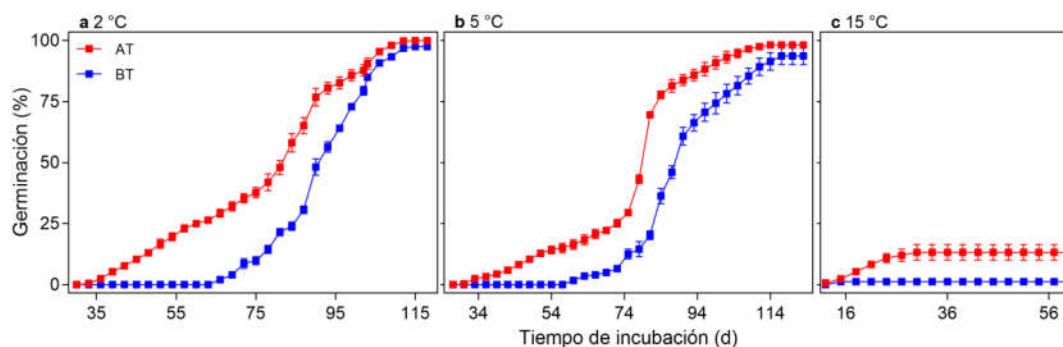


Figura S4. 2. Germinación acumulada (%) de semillas de *P. aviculare* incubadas a 2, 5 y 15 °C desde cosecha hasta que la germinación alcanzó un claro plateau. Las semillas se obtuvieron de plantas crecidas en invernáculos a alta (AT) y baja (BT) temperatura. Los símbolos representan la media ($n=5$) y las barras verticales, el error estándar.

Figuras y notas suplementarias al Capítulo 5

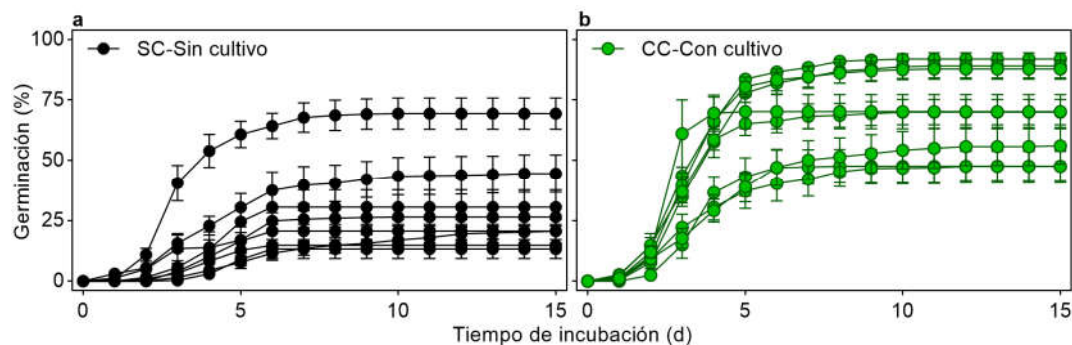


Figura S5. 1. Germinación acumulada (%) de semillas de *P. aviculare* incubadas a 10/24 °C luego de ser estratificada 10 d. Las semillas se obtuvieron de plantas emergidas espontáneamente (a) alejadas del canopeo del cultivo o (b) expuestas a niveles variables al canopeo de un cultivo de trigo. Los símbolos representan la media ($n=7$) y las barras verticales, el error estándar.

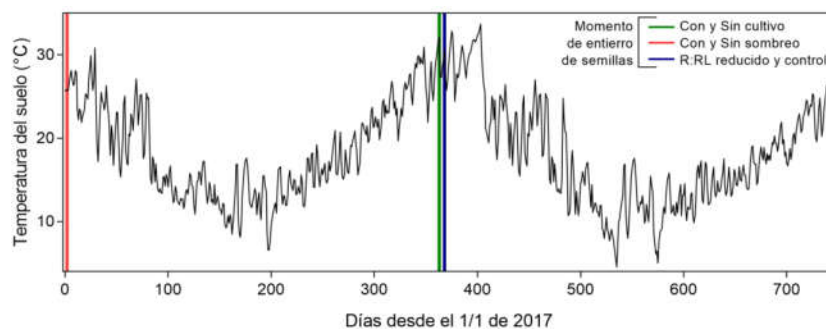
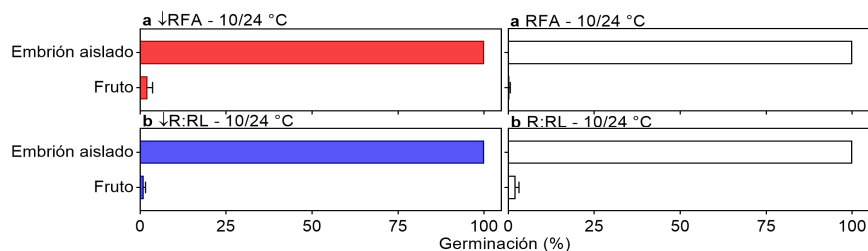
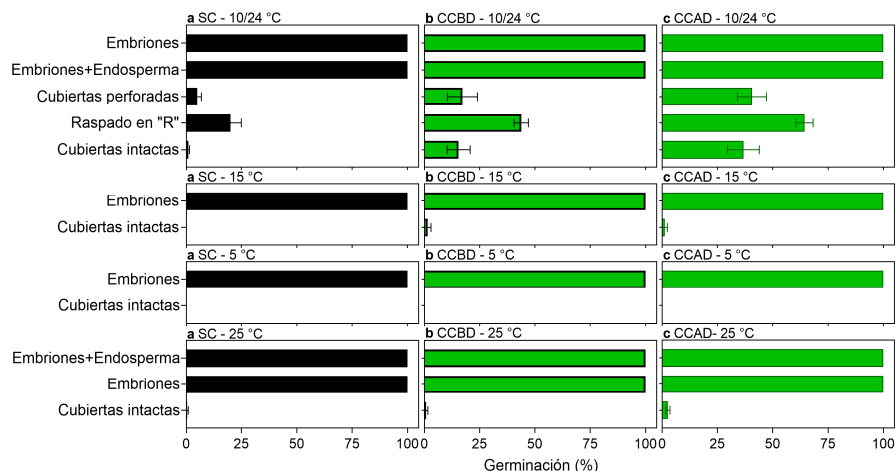


Figura S5. 4. Temperatura media diaria del suelo medida desde el entierro (indicado con líneas verticales) hasta la finalización de los ensayos de emergencia a campo.

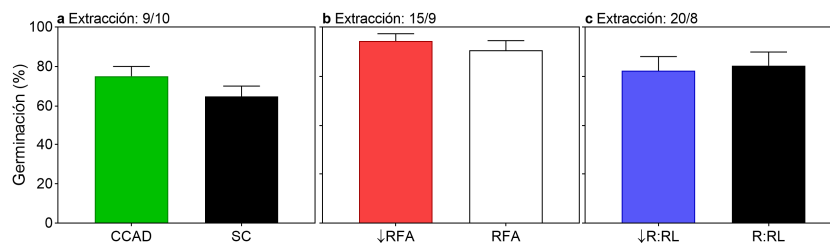


Figura S5. 5. Germinación (%) de frutos de *P. aviculare* incubados 15 d a 10/24 °C. Los frutos de (a) SC y CCAD, (b) ↓RFA y RFA y (c) ↓R:RL y R:RL se extrajeron de los ensayos de campo en la fecha indicada en cada panel. Las columnas representan la media (n= 4) y las barras, el error estándar.